

Frankfurt a.M. 1982.

**SUBLINGUALE RESORPTION
VON
DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID**

Olaf Wölfle

—

SUBLINGUALE RESORPTION
VON
DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID

Aus dem Zentrum der Pharmakologie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main
Abteilung Klinische Pharmakologie
Leiter: Professor Dr.med. N. Rietbrock

SUBLINGUALE RESORPTION VON
DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Olaf Wölfle
aus Frankfurt/Main

Frankfurt am Main, 1982

Das dem Institut der Pharmazie
des Johann Wolfgang Goethe-Universitäts
in Frankfurt am Main
Abteilung für die Pharmazie
Lehrer Professor Dr. med. E. Steinhilber

SUBSTITUIERTE RESORPTION KÖRPER
DIGESTION-UND-DIGESTION



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
des Doktor der
Naturwissenschaften
des Johann Wolfgang Goethe-Universitäts
Frankfurt am Main

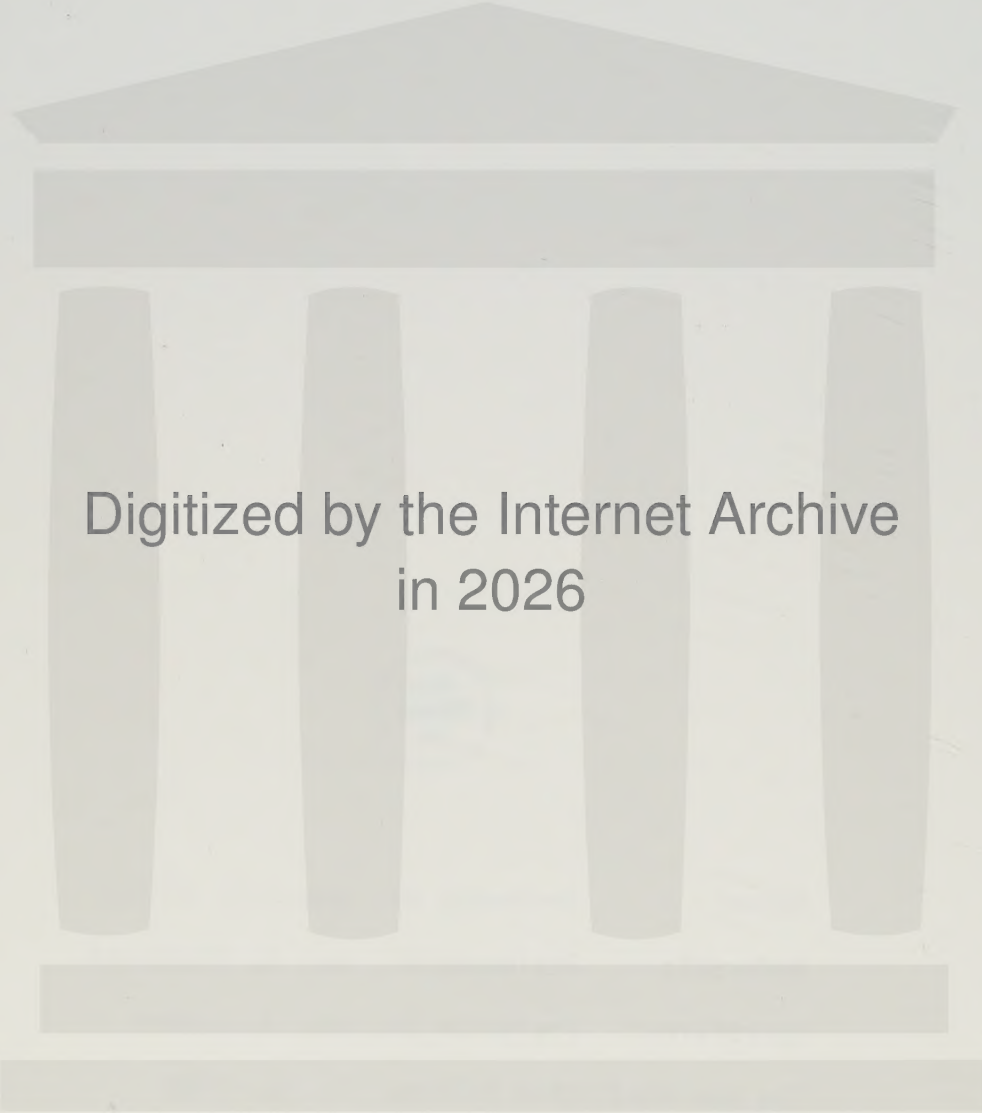
Verfasser
Dr. med.
E. Steinhilber

Dekan: Professor Dr. med. H.J. Müller

Referent: Professor Dr. med. N. Rietbrock

Korreferent: Professor Dr. med. B. Lemmer

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550809_0033

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I) EINLEITUNG	1
a) Chemie der Digitalisglykoside	1
b) Metabolismus des Digitoxins	1
c) Metabolismus und Pharmakokinetik von Digitoxigenin-mono-digitoxosid	5
d) Problemstellung	9
II) METHODIK	10
a) Versuchspersonen	10
b) Verwendete Pharmaka	11
c) Versuchsablauf	11
d) Aufarbeitung der Blutproben	12
e) Aufbewahrung des Urins	12
f) Radioimmunologische Bestimmung der Glykosid-Konzentration in Serum, Urin, Serum nach XAD-Extraktion und Urin nach XAD-Extraktion	12
g) XAD-Extraktion des Glykosids aus Serum und Urin	15
h) Ermittlung der Wiederfindungsrate	16
i) Qualitätskontrolle	17
j) Statistische Berechnungen	19
III) ERGEBNISSE	21
a) Konzentrations-Zeit-Kurven im Serum nach oraler Applikation	21
b) Konzentrations-Zeit-Kurven im Serum nach sublingualer Applikation	21
c) Relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten	22
d) Glykosidkonzentration im Serum nach XAD-Extraktion	23
e) Glykosidausscheidung im Urin	24
f) Glykosidausscheidung im Urin nach XAD-Extraktion	24
IV) DISKUSSION	27
V) ZUSAMMENFASSUNG	31
VI) LITERATURVERZEICHNIS	53

I) E I N L E I T U N G

a) CHEMIE DER DIGITALISGLYKOSIDE

Allen Digitalisglykosiden gemeinsam ist das Cyclopentano-perhydro-phenanthren-Gerüst in bestimmter sterischer Anordnung mit folgenden Substituenten: eine mit Zucker verätherte OH-Gruppe in Stellung 3, eine OH-Gruppe in Stellung 14 und ein ungesättigter Lactonring in Stellung 17 (35). In Stellung 5, 10, 11, 12 oder 16 können weitere Substituenten vorhanden sein.

Durch die Ringverknüpfung im Cyclopentano-perhydrophenanthren-Gerüst sind eine Reihe räumlicher Isomeren möglich, nämlich die cis- und die trans- Verknüpfung. Durch die für die Herzglykoside charakteristische Ringverknüpfung AB cis (mit wenigen Ausnahmen), BC trans und CD cis unterscheiden sich diese wesentlich von anderen Cyclopentano-perhydrophenanthren Derivaten.

Für eine Herzwirksamkeit ist Bedingung, daß der 17-Lactonring und die 3-OH-Gruppe die β -Stellung besitzen und daß der Lactonring ungesättigt ist (35). Während das Aglucon (Genin) für die Wirkungsspezifität des Glykosids verantwortlich zeichnet, wird das pharmakologische Verhalten von den Zuckerresten bestimmt. Die Zucker, die aus den Herzglykosiden isoliert werden können, sind mit Ausnahme der Glukose sehr seltene Substanzen. Der in den Digitalisglykosiden am häufigsten vorkommende Zucker ist die Digitoxose, die bisher nur in Verbindung mit Herzglykosiden bekannt geworden ist.

b) METABOLISMUS DES DIGITOXINS

Bei der Verstoffwechslung von Digitalisglykosiden finden strukturändernde und strukturaufbauende Reaktionen statt, die die Lipoidlöslichkeit verringern und die Wasserlöslichkeit erhöhen (33).

Nach RIETBROCK et al. (52) wird die Bewegung der Moleküle vom Zellinneren nach außen durch eine höhere Polarität der Metaboliten erzwungen, d.h. die Biotransformation wird auf die Ausscheidung hin gerichtet.

REPKE (44) sowie REPKE et al. (46, 47, 48) lieferten durch ihre Arbeiten über die Metabolisierungsschritte in vivo bei der Ratte und in vitro an tierischen und menschlichen Leberschnitten die grundlegenden Kenntnisse der Biotransformation von Digitoxin.

Für die Verteilung und Elimination von Digitoxin sind folgende Metabolisierungsschritte von Bedeutung:

1. Abspaltung der Digitoxosen
2. Konjugation
3. Hydroxylierung
4. Hydrierung

1.) Abspaltung der Digitoxosen

Hauptverantwortlich für die stufenweise Abspaltung der β -glykosidisch miteinander verbundenen Digitoxosen sind Leberenzyme, deren Natur aber bis heute noch nicht geklärt ist (33). Nach Untersuchungen von SCHMOLDT et al. (54) geschieht die schrittweise Zuckerkettenabspaltung durch mikrosomale Monooxygenasen in Anwesenheit von NADPH und Sauerstoff. Der entscheidende Schritt vor der hydrolytischen Spaltung der terminalen Digitoxose ist die Oxydation zum entsprechenden Dehydro-Digitoxosyl, die von einem spezifischen Isocytochrom P 450 von einer Kette von Isocytochromen abhängig zu sein scheint und durch verschiedene synthetische Steroide induzierbar ist (56, 57). Während die induzierende Wirkung synthetischer Steroide auf die Bildung von 9-Dehydrobisdigitoxosid und 3-Dehydro-monodigitoxosid weniger ausgeprägt ist als auf die Bildung von 15-Dehydro-Digitoxin, wird Digitoxigenin wahrscheinlich aufgrund der hohen Stabilität des 3-Dehydro-monodigitoxosids nicht gebildet (55).

2.) Konjugation

Als entscheidende Schritte der Biotransformation der Monoside und Aglukone werden Konjugationsreaktionen mit Glucuronsäure und Schwefelsäure angesehen (25, 26, 32). Lange Zeit galt die Ansicht, daß diese Konjugationsreaktionen erst nach Abspaltung der drei Digitoxosen und anschließender Epimerisierung der 3- β -Hydroxylgruppe in die α -Stellung am Epidigitoxigenin stattfindet (46, 47, 48).

Nachdem HERRMANN und REPKE aber darauf hingewiesen haben, daß die Kapazität der menschlichen Leber zur Elimination von Digitoxigenin durch Epimerisierung nur gering ist (26), wird nun auch eine direkte Konjugation des Digitoxins und seiner zuckerärmeren Metaboliten mit Glucuronsäure und Schwefelsäure als möglich angesehen (26). Wegen der geringen Mengen chloroformunlöslicher Metaboliten in Plasma, Urin und Fäzes und deren schwieriger Isolierbarkeit ist eine direkte Strukturaufklärung der Konjugate bis heute nicht gelungen (33).

Durch semiquantitative Löslichkeitsbestimmungen und Rückspaltung der Konjugate mit Glucuronidase und Sulfatase und anschließender chromatographischer Analyse der Spaltprodukte werden heute eine direkte Konjugation der Monodigitoxoside und eine Konjugation der 3-Epimere der Aglucone als möglich angesehen (10, 26, 52); beide Schritte führen nach REPKE (49) zu einer erheblichen Zunahme der Eliminationsgeschwindigkeit.

Die Herzwirksamkeit der Monodigitoxoside ist vergleichbar mit der der Ausgangssubstanz (4), während sie auf der Stufe der Cardenolid-Genin-Konjugate um mindestens eine Zehnerpotenz niedriger anzusetzen ist.

3.) Hydroxylierung

ASHLEY et al. (2) beschrieben beim Menschen und REPKE (44) bei der Ratte die 12- β -Hydroxylierung von Digitoxin zu Digoxin. Bedingt durch die Stereochemie des Ringgerüsts ist bei den Digitalisglykosiden die 12- α -Position sterisch behindert, so daß die 12- β -Position bevorzugt wird (49). Nach SCHMOLDT et al. (54) wird auch diese Reaktion durch mikrosomale Monooxygenasen katalysiert und kann durch Induktion gesteigert werden (59, 60, 62).

4.) Hydrierung

BODEM und v.UNRUH (8) konnten nach einmaliger Dosis von 1 mg Digitoxin bei zwei von fünf Probanden geringe Mengen Dihydrodigitoxin nachweisen. Verschiedene Autoren wiesen mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie Dihydroverbindungen von Digitoxin und Digoxin in Plasma und Urin beim Menschen nach (7, 16, 23, 38, 42, 47). Die Herzwirksamkeit der beim Menschen entdeckten Dihydroverbindungen ist 16 - 20 mal geringer als die der entsprechenden Ausgangssubstanzen (3).

Die entscheidende Inaktivierungsreaktion von Digitoxin ist die Abspaltung der sekundären Digitoxose; d.h. die Bildung von Digitoxigenin-mono-digitoxosid (65). Die im Urin auftretenden polaren Metabolite können teilweise durch β -Glucuronidase hydrolysiert werden; es resultiert als lipophiles Spaltprodukt das Mono-Digitoxosid des Digitoxins.

In nichtkonjugierter Form kann das Mono-Digitoxosid nach Applikation von Digitoxin in Plasma und Urin nicht gefunden werden, im Stuhl entfallen jedoch in Untersuchungen von VÖHRINGER und RIETBROCK (65) 20 % der innerhalb 192 Stunden ausgeschiedenen Glykosidmenge auf nichtkonjugiertes Mono-Digitoxosid. Während die Autoren zwischen der 24. und der 48. Stunde eine maximale und danach eine langsam abnehmende Ausscheidung polarer Metaboliten feststellten, verdoppelte sich im gleichen Zeitraum der Anteil des Mono-Digitoxosids.

VÖHRINGER und RIETBROCK leiten daraus die Vermutung ab, daß die Ausscheidung von nichtkonjugiertem Mono-Digitoxosid im Stuhl teilweise auf eine bakterielle Hydrolyse der polaren Konjugate während ihres Colontransfers zurückzuführen ist (65).

c) METABOLISMUS UND PHARMAKOKINETIK VON DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID

VÖHRINGER und RIETBROCK (65) fanden nach oraler Applikation von 0,4 mg ^3H -Digitoxigenin-mono-digitoxosid zwischen der 12. und 192. Stunde einen log-linearen Konzentrationsabfall mit einer Halbwertszeit von im Mittel 2,3 Tagen, so daß das Mono-Digitoxosid fast dreimal so schnell ausgeschieden wurde wie Digitoxin. Acht Tage nach Applikation waren über 90% der verabreichten Radioaktivität mit Urin und Stuhl ausgeschieden; die renale Elimination betrug in dieser Zeit 44,2 % und die extrarenale 47,5 % der Dosis. Da in Plasma und Urin die unveränderte Substanz nur in Spuren nachgewiesen werden konnte, nahmen die o.a. Autoren einen schnellen und nahezu vollständigen Abbau des Digitoxigenin-mono-digitoxosids an.

Als Hauptmetabolite ermittelten VÖHRINGER und RIETBROCK (65) wasserlösliche Konjugate sowie das am Kohlenstoff-12-Atom hydroxylierte Digoxigenin-mono-digitoxosid. 80 % der Gesamtradioaktivität in Plasma und Urin entfallen nach diesen Versuchen auf polare Metaboliten. Konjugiert werden nach VÖHRINGER und RIETBROCK (65) vorwiegend die unveränderte Substanz sowie in geringem Umfang das Genin nach Abspaltung der endständigen Digitoxose. Analog dem Digoxigenin-mono-digitoxosid, das ohne vorherige Epimerisierung der Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 3 des Digoxigenins konjugiert werden kann, kann auch das Digitoxigenin-mono-digitoxosid ohne vorausgehende Epimerisierung konjugiert werden (65).

Im Gegensatz zum Urin wiesen VÖHRINGER und RIETBROCK (65) in den Fäzes einen beträchtlichen Anteil an unveränderter Substanz nach, und zwar 39% der verabfolgten Dosis.

Sie schlossen auf eine Resorptionsquote von 60 % für das ^3H -Digitoxigenin-mono-digitoxosid. Das ^3H -Digitoxigenin-mono-digitoxosid wies nach oraler, einmaliger Applikation einen biphasischen Konzentrationsverlauf der Gesamtradioaktivität im Plasma auf, so daß VÖHRINGER und RIETBROCK eine hohe biliäre Clearance des konjugierten Mono-Digitoxosids mit konsekutiver Spaltung in den unteren Darmabschnitten in Betracht zogen (65).

Für Digitoxigenin-bis-digitoxosid ermittelte REPKE (50) ein ähnliches pharmakokinetisches Verhalten wie für Digitoxin; auf der Stufe des Mono-Digitoxosids kommt es jedoch zu einer beträchtlichen Änderung des pharmakokinetischen Profils: es kommt zu einer signifikanten Verkürzung der Halbwertszeit, die Metabolisierungsrate wird durch Einschalten der Leber in den Eliminationsprozeß erhöht und der Ausscheidungsmodus zur extrarenalen Seite hin verschoben.

Als hauptsächlichster wasserlöslicher Metabolit des Digitoxins in der Galle konnte das Digitoxigenin-mono-digitoxosid-glucuronid identifiziert werden (14, 15). Nach Applikation von ³H-Digitoxin waren jedoch nur wenige Prozent der Metaboliten im Stuhl polare Metaboliten, d.h. Digitoxigenin-Konjugate, Digitoxigenin-mono-digitoxosid- und -bis-digitoxosid-Konjugate und Digitoxin-Konjugate (13). Das Verschwinden des Digitoxigenin-mono-digitoxosid-glucuronids zwischen seinem Auftreten in der Galle und seiner Ausscheidung im Stuhl erklären VOLP und LAGE (63) aufgrund ihrer in-vitro-Versuche mit Duodenal- und Coecal-Schnitten hauptsächlich durch Hydrolyse des Glucuronids im Coecum. Das hydrolysierende Enzym, die β -Glucuronidase, ist nach CLARK et al. (17) und FISCHER et al. (21) bakterieller Natur (Stuhlbakterien).

Nach der Hydrolyse kann das Mono-digitoxosid wieder resorbiert werden. Nach VOLP und LAGE (63) wird das Mono-digitoxosid sowohl im oberen Gastrointestinaltrakt als auch im Coecum schneller absorbiert als das Mono-Glucuronid.

Die Bildung des Mono-Digitoxosids aus dem Mono-Glucuronid vollzieht sich nur im Coecum, wo die Absorption des Monos nicht so schnell vonstatten geht wie im oberen Gastrointestinaltrakt (63).

Der Hauptschritt in der Metabolisierung des Digitoxins ist die Abspaltung zweier Digitoxosen, d.h. die Bildung des Mono-Digitoxosids, das dann mit Glucuronsäure konjugiert wird und als wasserlöslicher inaktiver Metabolit mit der Galle ausgeschieden wird. Das Hauptsubstrat für die Glucuronidierung ist das Mono-Digitoxosid (51).

Bezüglich der Konjugation verhalten sich die digitaloiden Steroidlaktone ähnlich wie die Steroidhormone (28). Bei beiden geschieht die Veresterung mit Schwefelsäure mit dem sulfatkonjugierenden Fermentsystem (19, 53, 58) in Gegenwart von ATP (19). Am ausgiebigsten findet sich die Konjugation mit Glucuronsäure durch Leberschnitte bei beiden Substrattypen beim Hund (22). Eine Sulfatkonjugation durch Hundeleber konnte bisher beim Digitoxigenin nicht beobachtet werden; bei den Steroidhormonen konnte sie jedoch nachgewiesen werden (29).

Digitoxigenin-mono-digitoxosid wird auf dem Wege der Glykosidspaltung zu chloroformunlöslichen Metaboliten abgebaut (27, 37, 46). Das als Intermediärprodukt zu fordernde Genin konnte dabei bisher nur schwer nachgewiesen werden (28), was auf eine schnelle Biotransformation zu wasserlöslichen Metaboliten schließen läßt.

Bei in-vivo-Untersuchungen fanden OKITA et al. (41) sowie FISCHER et al. (20) nach Gabe von radioaktiv markiertem Digitoxin bei Mensch, Ratte und Katze den größten Teil des ausgeschiedenen markierten Materials als wasserlösliche Metabolite. HERRMANN und REPKE (28) gelang es, nach Inkubation von Digitoxin wie auch von Digitoxigenin-mono-digitoxosid mit Leberschnitten vom Hund 3-Epi-digitoxigenin-glucosid-uronat als Metaboliten nachzuweisen. HERRMANN und REPKE (28) fanden nach Inkubation von Digitoxigenin mit Gewebsschnitten aus der Leber von Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Hund und Mensch insgesamt sechs hochpolare Metaboliten: Bei allen Tierspecies außer dem Hund fanden sie Digitoxigeninsulfat und 3-Epi-digitoxigeninsulfat. Bei Ratte und Meerschweinchen fanden sie schwer hydrolysierbare Sulfate oder unbekannte Konjugate eines Genins. Bei Mensch, Kaninchen und Hund fanden sie das 3-Epi-digitoxigenin-glucosid-uronat. Ferner fand sich beim Hund das Diglucosid-uronat eines hydroxylierten Digitoxigenin-Derivates.

Während es bei in-vitro-Versuchen mit Rattenleber-Schnitten zu einer starken Metabolisierung von Digoxin und Digitoxin kam, waren Leber-Homogenate nicht in der Lage, Digitalisglykoside zu metabolisieren (36, 37). CASTLE führt dies auf einen NADPH-Mangel der homogenisierten Leber zurück (12). Dies steht in Einklang mit Versuchen von SCHMOLDT et al., die aufzeigten, daß die Abspaltung der Digitoxosen durch NADPH-abhängige

mikrosomale Enzyme geschieht (54).

HERRMANN und REPKE (25) vermuteten für den Menschen eine im Vergleich zur Katze geringere Biotransformation des Digitoxigenin-mono-digitoxosids. Dem widersprechen jedoch die Untersuchungen von VÖHRINGER (64), der nach oraler Verabfolgung von ^3H -Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei drei Probanden einen schnellen und nahezu vollständigen Abbau fand. In der genannten Untersuchung von VÖHRINGER entfielen ca. 80 % der Gesamtradioaktivität in Plasma und Urin auf CHCl_3 -unlösliche Metaboliten; als Hauptmetabolite fanden sich wasserlösliche Konjugate sowie das Digoxigenin-mono-digitoxosid.

Den geringen Anteil an hydroxylierten Verbindungen in Plasma und Urin führen KUHLMANN et al. (32) auf die begrenzte Hydroxylierungskapazität der menschlichen Leber und auf die rasche Ausscheidung des Mono-Digitoxosids zurück.

VÖHRINGER (64) vermutet eine hohe biliäre Clearance des konjugierten Mono-Digitoxosids mit konsekutiver Spaltung in den unteren Darmschnitten. BESCH und WATANABE (5) sowie CALDWELL und NASH (11) zeigten am Tier, daß die Wirkungsstärke und die Wirkungsdauer von Herzglykosiden durch die Abspaltung der Zuckerseitenkette bis zum Mono-Digitoxosid verändert werden.

Am Papillarmuskel und am Vorhof des Meerschweinchens sowie am Herz-Lungen-Präparat der Katze zeigt das Digitoxigenin-mono-digitoxosid eine größere Wirkungsstärke und eine größere therapeutische Breite als sein entsprechendes Tridigitoxosid (39, 40, 64), jedoch werden in vivo Wirkungsstärke und Wirkungsdauer in erster Linie von Polarität und Geschwindigkeit der Biotransformation bestimmt (64).

So haben LAUTERBACH und REPKE (37) sowie HERRMANN und REPKE (25) in ihren in-vitro-Experimenten aus Leberschnitten von Menschen und verschiedenen Tierspecies eine stark erhöhte Abbaugeschwindigkeit des Digitoxigenin-mono-digitoxosids gegenüber dem Digitoxin nachgewiesen. REPKE und LAUTERBACH (45) identifizierten einen stark polaren Metaboliten als 3-Epi-digitoxigenin-glucuronid. Nach BELZ und HEINZ (4) sind Konjugationsprodukte jedoch in vitro 1,4 - 11 mal schwächer wirksam als ihre Ausgangsprodukte.

Bei der Untersuchung der Kinetik des Mono-Digitoxosids im Plasma fand VÖHRINGER (64) ein erstes Konzentrationsmaximum nach zwei Stunden mit darauf folgendem schnellen Absinken der Gesamtradioaktivität und nach ca. 12 Stunden einem zweiten, verbreiterten Maximum mit doppelt so hohen Konzentrationen. VÖHRINGER sieht darin einen Hinweis auf einen enterohepatischen Kreislauf zumindest des polaren Anteils des Mono-Digitoxosids. Er errechnete für das Digitoxigenin-mono-digitoxosid eine Halbwertszeit von 2,3 Tagen sowie ein Verteilungsvolumen von 28,2 Litern bzw. 0,46 Litern/kg (64).

Das Digitoxigenin-mono-digitoxosid zeigt einen schnelleren Wirkungseintritt, ein größeres Wirkungsmaximum und eine verkürzte Abklingquote der positiven Inotropie als das Digitoxin (9). Es besitzt eine hohe Metabolisierungsrate und eine hohe biliäre Clearance mit schneller Elimination aus dem Organismus (1,32). KRONEBERG et al. (31) ermittelten gegenüber dem Digitoxin für das Digitoxigenin-mono-digitoxosid eine doppelt so hohe tödliche Dosis bei der Katze.

d) PROBLEMSTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit soll sein

- 1.) Weitere Erkenntnisse bezüglich des Metabolisierungsverhaltens des Digitoxigenin-mono-digitoxosids beim Menschen anhand einer in-vivo-Untersuchung zu erlangen und
- 2.) zu untersuchen, ob es auch bei subling. Applikation des Digitoxigenin-mono-digitoxosids zu einer Änderung der in der Literatur beschriebenen schnellen und nahezu vollständigen Metabolisierung kommt, d.h. ob bei subling. Applikation die Nachteile des Digitoxigenin-mono-digitoxosids bei oraler Gabe (schnelle und fast vollständige Metabolisierung zu polaren, d.h. kardioinaktiven Metaboliten) vermindert werden können.

II) M E T H O D I K

a) VERSUCHSPERSONEN

An der Untersuchung nahmen fünf freiwillige Versuchspersonen beiderlei Geschlechts (Mitarbeiter des Zentrums der Pharmakologie, Abteilung Klinische Pharmakologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt) teil. Die Versuchspersonen wurden genau über Ablauf und Zweck der Untersuchung sowie über Wirkungen und mögliche Nebenwirkungen informiert, was sie durch Unterschrift auf einem Versuchsprotokoll bestätigten. Den Probanden wurde eine Druckschrift des Versuchsprotokolls ausgehändigt. Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße der Probanden sind aus Tabelle 1 ersichtlich:

Proband	Geschlecht	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (cm)
B.W.	m	41	65	171
G.M.	w	23	40	150
F.S.	w	40	65	163
A.G.	w	27	63	169
B.H.	m	33	68	172

Tabelle 1: Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße der Versuchspersonen.

Bei allen Probanden wurden folgende Laborparameter routinemäßig bestimmt:

Gesamt-Eiweiß, SGOT, SGPT, γ -GT, alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin im Serum, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin im Serum, Albumin. Die Laborparameter sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

b) VERWENDETE PHARMAKA

- 1.) Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Tabletten der Firma Beiersdorf AG, Hamburg. Charge Nr. G 373

Deklariertes Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt:
0,2 mg / Tablette

- 2.) Digitoxigenin-mono-digitoxosid Buccal-Tabletten der Firma Beiersdorf AG, Hamburg. Charge Nr. G 375

Deklariertes Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt:
0,5 mg / Tablette

c) VERSUCHSABLAUF

Der Versuch wurde in zwei Durchgängen (orale und subling. Applikation) durchgeführt; zwischen beiden Durchgängen wurde ein Zeitabstand von mindestens drei Wochen eingehalten.

1. Durchgang: Orale Applikation

Morgens nach einem leichten Frühstück (Brötchen, Tee) wurden zwischen 8 und 9 Uhr 0,8 mg (4 Tabletten à 0,2 mg) Digitoxigenin-mono-digitoxosid oral mit ca. 100 ml Wasser appliziert. Jeweils vor Einnahme der Tabletten sowie 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 und 168 Stunden nach Applikation wurde mit einer normalen Kanüle No. 12 ca. 10 ml venöses Blut aus der Armbeugenvene entnommen und bis zur Spontangerinnung mindestens drei Stunden in einem Plastikröhrchen stehengelassen.

2. Durchgang: Sublinguale Applikation

Der zweite Durchgang erfolgte analog dem ersten, jedoch wurde eine Buccaltablette à 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid appliziert. Die Probanden wurden angewiesen, die Tablette bis zur völligen Auflösung sublingual im Mund zu belassen.

Bei beiden Durchgängen wurde Urin über folgende Perioden gesammelt: Vor Applikation, 0-2 Stunden, 2-6 Stunden, 6-12 Stunden und 12-24 Stunden nach Applikation der Tabletten. Während der gesamten Versuchsdauer waren die Probanden angewiesen, keine weiteren Medikamente einzunehmen.

d) AUFARBEITUNG DER BLUTPROBEN

Von den spontan geronnenen Blutproben wurde vorsichtig mit einem Holzstäbchen der Blutkuchen abgehoben und verworfen. Das verbleibende Blut wurde 10 Minuten bei 4.000 Upm zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde abpipettiert und in Eppendorf-Gefäße eingefüllt. Die Serumproben wurden bis zur Analyse tiefgekühlt bei -20° C aufbewahrt.

e) AUFBEWAHRUNG DES URINS

Das Volumen des während der einzelnen Sammelperioden spontan gelassenen Urins wurde bestimmt und jeweils ein Teil des Urins wurde in Plastikfläschchen bis zur Analyse bei -20° C tiefgekühlt aufbewahrt.

f) RADIOIMMUNOLOGISCHE BESTIMMUNG DER GLYKOSID-KONZENTRATION IN SERUM, URIN, SERUM NACH XAD-EXTRAKTION UND URIN NACH XAD-EXTRAKTION

Zur Anwendung kamen die Radioimmunoassays zweier verschiedener Hersteller:

Die Glykosidaktivität im Serum und damit der Blutspiegelverlauf wurde mit Hilfe des GAMMA COAT ¹²⁵J DIGITOXIN RADIOIMMUNOASSAY KIT der Firma CLINICAL ASSEYS, CAMBRIDGE, MASS. radioimmunologisch bestimmt.

Die Glykosidaktivität im Urin, Urin nach XAD-Extraktion, Serum 1/2 - 2 Stunden und 6-12 Stunden post appl. sowie Serum 1/2 - 2 Stunden und 6-12 Stunden post appl. nach XAD-Extraktion wurde mit Hilfe des DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION DIGITOXIN RIA J-125 der Firma Hermann Biermann GmbH, Bad Nauheim, radioimmunologisch bestimmt.

Radioimmunologische Bestimmung der Glykosidkonzentration mit Hilfe des GAMMA COAT ^{125}J DIGITOXIN RIA KIT

Dieser Test verwendet Digitoxin-Antikörper (Kaninchen-Antikörper), die in einem Titer von 1 : 2000 auf den Boden von Polypropylenröhrchen aufgebracht sind, sowie ein Konjugat aus ^{125}J -Tyrosin und Digitoxigenin als Tracer (spez. Aktivität 0,5 mCi/mmol) (18). Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt, wobei die antikörperbeschichteten Plastikröhrchen mit jeweils 10 µl des zu analysierenden Serums und gleich im Anschluß mit 1 ml Tracer bestückt wurden. Die Testansätze wurden dann mit einem Vortex-Mixer jeweils ca. 5 sec. bei geringer Geschwindigkeit geschüttelt und dann eine Stunde in einem Wasserbad von 37° C inkubiert. Anschließend wurde der Überstand aus den Plastikröhrchen abgesaugt und somit antikörpergebundener und freier Glykosidanteil getrennt. Die antikörpergebundene Radioaktivität wurde über jeweils eine Minute gezählt.

Radioimmunologische Bestimmung der Glykosidkonzentration mit Hilfe des DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION DIGITOXIN RIA J-125

Dieser Test basiert auf der Konkurrenz zwischen nichtmarkiertem Digitoxin (Probanden-Digitoxin) und ^{125}J -markiertem Digitoxin um die Bindung an Digitoxin-spezifische Antikörper. Die antikörpergebundenen Teile des Reaktionsgemisches werden durch Fällung mit einem Gemisch aus einem zweiten Antikörper (Ziege-Antikaninchen-Gammaglobulin) und Polyäthylenglykol von den freien Komponenten getrennt. Nach Zentrifugation wird die Radioaktivität im Präzipitat gemessen (6). Alle Reagentien, die in gefriergetrocknetem Zustand geliefert wurden, wurden gemäß Anweisung des Herstellers (6) mindestens zehn Minuten vor Testansatz in

destilliertem Wasser bzw. NaCl-Lösung aufgelöst. Alle Testansätze wurden in Doppelbestimmung analysiert. Zu jeweils 50 µl des Patientenserums wurden nacheinander 100 µl Digitoxin-J-125 und 100 µl Anti-Digitoxin-Serum in Plastikröhrchen pipettiert. Dieser Testansatz wurde am Vibrationsmischer gut durchmischt und anschließend für 20 min. bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Anschließend wurden zu jeder Probe 100 µl Ziege-Antikaninchen-Gammaglobulin und 2 ml kalte Polyäthylenglykol-Lösung zugegeben. Diese Testansätze wurden nun fünf Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen und anschließend zwanzig Minuten bei 3.500 Upm zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde die überstehende Flüssigkeit abgesaugt und die Radioaktivität der Niederschläge wurde über jeweils eine Minute gezählt.

Als Grundlage für die Bestimmung der Glykosidaktivität wurde bei beiden Radioimmunoassay-Verfahren eine Eichkurve anhand folgender Eichkonzentrationen erstellt: 0 ng/ml, 1 ng/ml, 3,75 ng/ml, 7,5 ng/ml, 15 ng/ml, 30 ng/ml, 60 ng/ml. Die Eichlösungen wurden nach Einwaage aus glykosidfreiem Serum des HESSISCHEN BLUTSPENDEDIENSTES und aus Digitoxigenin-mono-digitoxosid der Firma BEIERSDORF AG, Hamburg, hergestellt (Chem. Reinheit der Substanz größer als 98 % lt. Angabe der Herstellerfirma). Zur Erstellung der Eichkurve erfolgten die Testansätze jeweils als Dreifach-Bestimmungen; der Mittelwert der Dreifachbestimmung wurde für die Eichkurve zugrunde gelegt. Anhand der jeweils erstellten Eichkurve wurde von den Mittelwerten der gemessenen Radioaktivität der Doppelbestimmungen der jeweiligen Proben auf den Glykosidgehalt der Proben geschlossen.

Die Zählung der Radioaktivität erfolgte in einem AUTO-GAMMA-SCINTILLATIONSSPEKTROMETER der Firma PACKARD, Modell 5130. Die Proben wurden jeweils eine Minute lang gezählt. Zusätzlich zu den zu analysierenden Proben der Probanden wurde bei allen radioimmunologischen Bestimmungen ein Kontrollstandard der Konzentration 16 ng/ml (hergestellt nach Einwaage aus glykosidfreiem Serum des HESSISCHEN BLUTSPENDEDIENSTES und Digitoxigenin-mono-digitoxosid der Firma BEIERSDORF AG, Hamburg) als Dreifachbestimmung mitbestimmt. Das für die Herstellung der Eichlösungen verwendete Serum des Hessischen Blutspendedienstes war vorher auf

Glykosidfreiheit untersucht worden.

Um bei der radioimmunologischen Bestimmung der Urinproben gleiche Verhältnisse in den Testansätzen der Eichlösungen und den Testansätzen der Probanden-Urine zu schaffen, wurde bei den Urin-Bestimmungen zu den Eich-Testansätzen jeweils 50 µl glykosidfreier Urin (Urin des jeweiligen Probanden vor Medikamenten-Applikation) und zu den Urin-Testansätzen jeweils 50 µl glykosidfreies Serum des Hessischen Blutspendedienstes hinzugegeben.

g) XAD-EXTRAKTION DES GLYKOSIDS AUS SERUM UND URIN

Die Trennung von apolaren und polaren Metaboliten erfolgte in einem Extraktionsverfahren mit Hilfe des SERVACHROM XAD-2 Adsorberharzes (AMBERLITE XAD-Harz), Korngröße 50 - 100 µ der Firma SERVA FEINBIO-CHEMICA GmbH & Co, Heidelberg. Das AMBERLITE XAD-Harz wurde in eine Pappröhre gefüllt, mit Essigsäureäthylester benetzt, in einen Soxhlet-extraktor eingebracht und über Nacht über einem mit etwas Essigsäureäthylester gefüllten Kolben über einem Heizpilz mit Essigsäureäthylester bedampft. Anschließend wurde das XAD-Harz dreimal mit Aceton gewaschen und dann solange mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis kein Acetongeruch mehr wahrnehmbar war. Zwischen den einzelnen Waschschritten wurde jeweils zentrifugiert und der Überstand verworfen. Schließlich wurden pro Gramm XAD-Harz 10 ml einer 1 % Natriumkarbonat-Lösung zugegeben. Vor der Verwendung wurde die XAD-Soda-Lösung jeweils gut aufgeschüttelt.

Serum

Zu 1,5 ml Serum (zu jeweils gleichen Teilen aus den Serumproben 1/2, 1 und 2 Stunden bzw. 6, 8 und 12 Stunden post appl. des jeweiligen Probanden gemischt) wurden in ein verschließbares Reaktionsgefäß 1 ml XAD-Soda-Lösung zugegeben und auf einem Rüttler 20 Minuten geschüttelt. Anschließend wurde fünf Minuten bei 3.000 Upm zentrifugiert.

Der Überstand wurde abgesaugt und verworfen. Dem Zentrifugat wurden 2 ml 1 % Natriumkarbonat-Lösung zugegeben und nach kurzem Aufschütteln mittels eines Vortex-Mixers wurde erneut fünf Minuten bei 3.000 Upm zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut angesaugt und verworfen und es wurden nochmals 2 ml 1% Natriumkarbonat-Lösung zugegeben. Nach erneutem Schütteln und Zentrifugieren wurde der Überstand wiederum abgesaugt und verworfen. Es wurden nun 1,5 ml 1% Natriumkarbonat-Lösung und 2,5 ml Essigsäureäthylester zugegeben. Der Testansatz wurde mit einem Vortex-Mixer kurz aufgeschüttelt und anschließend auf einem Rüttler nochmals 20 Minuten geschüttelt. Es wurde nun erneut fünf Minuten bei 3.000 Upm zentrifugiert. Die Essigsäureäthylesterphase wurde vorsichtig abgehoben und in Eppendorf-Reaktionsgefäße abgefüllt. Der Essigsäureäthylester wurde nun bei 40°C über einem leichten Luftzug verdampft. Der nach dem Verdampfen in den Röhrchen verbliebenen Substanz wurde jeweils 200 µl glykosidfreies Serum zugegeben. Die Röhrchen wurden nun ca. eine Stunde geschüttelt und anschließend der radioimmunologischen Bestimmung zugeführt.

Urin

Die Extraktion der Urinproben geschah analog der Extraktion der Serumproben; in Abweichung davon wurden jedoch folgende veränderte Volumina verwendet:

1. Anstatt 1,5 ml Serum wurden 0,5 ml Urin extrahiert.
2. Vor dem letztmaligen 20 minütigen Schütteln wurden anstatt 1,5 ml Natriumkarbonat-Lösung nur 1 ml und anstatt 2,5 ml Essigsäureäthylester wurden nur 1,5 ml Essigsäureäthylester zugegeben.

h) ERMITTLUNG DER WIEDERFINDUNGSRATE

Es wurden 10 Serumproben mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 16 ng/ml radioimmunologisch

jeweils in Doppelbestimmungen auf ihren Glykosidgehalt jeweils vor und nach XAD-Extraktion untersucht. Aus dem Mittelwert der wiedergefundenen Glykosidmengen wurde die Wiederfindungsrate gemäß der Beziehung "Wiederfindungsrate in % = Wiedergefundene Glykosidmenge nach XAD-Extraktion / ursprüngliche Glykosidmenge x 100" errechnet.

Für die Kontrollproben mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 16 ng/ml wurde radioimmunologisch ein mittlerer Glykosidgehalt von $16,31 \pm 1,89$ ng/ml ermittelt. Nach XAD-Extraktion wurde ein mittlerer Glykosidgehalt von $10,88 \pm 2,21$ ng/ml bestimmt. Es ergibt sich somit eine mittlere Wiederfindungsrate von 66,71 % nach Extraktion des Serums (Tabelle 3).

Die Ermittlung der Wiederfindungsrate im Urin nach XAD-Extraktion erfolgte analog der Bestimmung im Serum. Abweichend wurden hier jedoch 10 Proben mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 30 ng/ml untersucht. Die Herstellung der Kontrollproben und die radioimmunologischen Bestimmungen erfolgten anhand der bereits vorher beschriebenen Verfahren.

Für die Kontrollproben mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 30,0 ng/ml ergab sich radioimmunologisch ein mittlerer Glykosidgehalt von $30,61 \pm 2,43$ ng/ml. Nach XAD-Extraktion wurde ein mittlerer Glykosidgehalt von $14,96 \pm 2,23$ ng/ml bestimmt. Es ergibt sich somit eine mittlere Wiederfindungsrate von 48,87 % nach XAD-Extraktion des Urins (Tabelle 4).

i) QUALITÄTSKONTROLLE

Bei allen radioimmunologischen Bestimmungen wurde als Dreifachansatz ein Kontrollstandard der Konzentration 16,0 ng/ml (hergestellt nach Einwaage aus Digitoxigenin-mono-digitoxosid und glykosidfreiem Serum) mitbestimmt. Für diesen Kontrollstandard wurden anhand der gemessenen Radioaktivität mittels der Eichkurven folgende Konzentrationen ermittelt:

Bestimmung	Ermittelte Konzentration
B.W. oral	17,5 ng/ml
B.W. sublingual	15,7 ng/ml
G.M. oral	19,0 ng/ml
G.M. sublingual	13,6 ng/ml
F.S. oral	14,5 ng/ml
F.S. sublingual	17,0 ng/ml
A.G. oral	17,5 ng/ml
A.G. sublingual	16,7 ng/ml
B.H. oral	17,0 ng/ml
B.H. sublingual	16,4 ng/ml
Serum ohne XAD-Extraktion	14,0 ng/ml
Serum mit XAD-Extraktion	14,0 ng/ml
Urin ohne XAD-Extraktion	14,9 ng/ml
Urin mit XAD-Extraktion	14,5 ng/ml
Wiederfindungsrate Serum	14,5 ng/ml
Wiederfindungsrate Urin	17,1 ng/ml

Es ergibt sich somit für das Kontrollserum ein Mittelwert von $15,86 \pm 1,61$ ng/ml. Die errechnete Standardabweichung ist nach (24) ein Maß für die im Labor übliche Streuung. Eine das übliche Maß übersteigende Streuung liegt vor, wenn der gemessene Wert des Kontrollserums mehr als die dreifache Standardabweichung vom Durchschnittswert des Kontrollserums entfernt liegt (24). Alle Meßreihen, bei denen der gemessene Wert des Kontrollserums den Bereich $\bar{X} \pm 3 s$ überschreitet, müßten demnach verworfen bzw. wiederholt werden. Für die Qualitätskontrolle ergibt sich damit:

$\bar{X} \pm 3 s = 15,86 \text{ ng/ml} \pm 4,83 \text{ ng/ml}$. Da keiner der gemessenen Kontrollwerte diesen Bereich überschreitet, dürfen alle Werte der gemessenen Meßreihen als im Rahmen der Qualitätskontrolle zuverlässig angesehen werden.

j) STATISCHE BERECHNUNGEN

Zur statischen Auswertung der bei den Glykosidbestimmungen in Serum und Urin erhaltenen Werte wurden die arithmetischen Mittelwerte $\bar{X}$ und die Standardabweichungen der Einzelwerte berechnet. Die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte erfolgte gemäß der Beziehung $\bar{X} = \sum x_i / n$.

Die Berechnung der Standardabweichungen erfolgte gemäß der Beziehung

$$SD = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}{n - 1}}$$

Die in den Tabellen (Tabellenteil) enthaltenen Parameter wurden vor der Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen nicht auf ihre Verteilung überprüft und haben somit lediglich tendenzielle Bedeutung!

Die Berechnung der Halbwertszeiten im Serum erfolgte anhand der Gleichung

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$

Die Berechnung der Flächen unter den Konzentrations-Zeit-Kurven (AUC) erfolgte nach der Trapezoidregel, wobei die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve durch die verschiedenen Meßpunkte in Trapeze unterteilt wird und die Gesamtfläche durch Aufsummation der Teilabschnitte gemäß folgender Gleichung ermittelt wird (30):

$$\begin{aligned} \text{AUC} = & 1/2 (y_0 + y_1) (x_1 - x_0) + \\ & 1/2 (y_1 + y_2) (x_2 - x_1) + \dots + \\ & 1/2 (y_{n-1} + y_n) (x_n - x_{n-1}) \end{aligned}$$

Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte anhand des U-Tests nach MANN und WHITNEY (Wilcoxon-Test, Rangsummentest). Der kritische Tabellenwert zur Prüfung der Nullhypothese entstammt (43).

III) E R G E B N I S S E

a) KONZENTRATIONS-ZEIT-KURVEN IM SERUM NACH ORALER APPLIKATION

Alle Serumkonzentrationsverläufe weisen zwei Aktivitätsmaxima auf, wobei bei einigen Probanden die Höhe des zweiten Peaks die des ersten Peaks übertrifft (Tabelle 5, Bilder 1 - 6). Dem ersten Konzentrationsmaximum, das im Mittel $1,5 \pm 0,71$ Stunden nach Applikation mit $11,66 \pm 4,96$ ng/ml zu beobachten ist, folgt ein schnelles Absinken der Konzentration, um im Mittel $8,8 \pm 3,03$ Stunden nach Applikation mit $14,56 \pm 7,75$ ng/ml ein zweites, das erste übertreffende Konzentrationsmaximum zu erreichen. Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von 0 - 168 Stunden beträgt zwischen 827,450 und 1.925,475 (Tabelle 7). Von der 12. bis zur 24. Stunde konnte bei zwei Probanden ein schnelles Absinken der Serum-Glykosidkonzentration beobachtet werden, das sich ab der 24. Stunde verlangsamt fortsetzte (Bild 1 und 2). Bei den übrigen Probanden ist ab der 12. Stunde ein langsames Absinken der Glykosidkonzentrationen zu beobachten (Bild 3 - 6). Von der 12. bis zur 168. Stunde kann der Konzentrationsabfall mit einer e-Funktion beschrieben werden; die für diesen Zeitraum ermittelte Halbwertszeit beträgt zwischen 36,2 Stunden und 198,1 Stunden.

b) KONZENTRATIONS-ZEIT-KURVEN IM SERUM NACH SUBLINGUALER APPLIKATION

Die Konzentrations-Zeit-Kurven nach sublingualer Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid weisen im wesentlichen den gleichen Verlauf auf wie nach oraler Applikation (Tabelle 6, Bilder 1 - 6). Es ist ein erstes Konzentrationsmaximum von $7,72 \pm 2,29$ ng/ml im Mittel nach $1,9 \pm 1,34$ Stunden festzustellen, dem ein schnelles Absinken der Serumglykosidaktivität folgt. Nach im Mittel $12 \pm 6,93$ Stunden kommt es mit $8,42 \pm 1,86$ ng/ml zu einem zweiten, wiederum das erste übertreffende Konzentrationsmaximum (Tabelle 8). Ab der 24. Stunde folgt die Elimination wiederum einer e-Funktion; die Halbwertszeit von der 24. bis zur 168. Stunde beträgt zwischen 22,9 Stunden und 115,7 Stunden. Die Fläche unter der Konzentrations-

Zeit-Kurve von der 0. bis zur 168. Stunde beträgt zwischen 228,950 und 754,475 Stunden.

Die beschriebenen pharmakokinetischen Parameter sind in den Tabellen 7 und 8 nochmals gegenübergestellt.

c) RELATIVE BIOVERFÜGBARKEIT DER BUCCAL-TABLETTEN

Die relative Bioverfügbarkeit der Buccal-Tabletten, bezogen auf die orale Applikation, wurde gemäß folgender Beziehung errechnet:

$$\frac{AUC_{\text{subl.}}}{AUC_{\text{oral}}} \times \frac{0,5 \text{ (=subling.Dosis)}}{0,8 \text{ (=orale Dosis)}} \times 100 = BV_{\text{rel.}} (\%)$$

Es ergeben sich damit folgende Werte:

Proband	AUC _{0-168 h sublin.}	AUC _{0-168 h oral}	rel.BV _{subling.}
B.W.	673,230	1.925,475	55,94 %
G.M.	365,175	1.133,200	51,56 %
F.S.	228,950	827,450	44,27 %
A.G.	754,475	956,725	126,18 %
B.H.	680,676	815,676	133,62 %
$\bar{X}$	540,501	1.131,705	82,31 %
SD	229,594	461,827	43,72 %

Es ergibt sich somit eine mittlere individuelle relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten von 82,31 % $\pm$ 43,72 %. Die relative Bioverfügbarkeit gemäß der Mittelwertskurve beträgt 75,25 %.

d) GLYKOSIDKONZENTRATION IM SERUM NACH XAD-EXTRAKTION

Tabelle 9 zeigt die während der beiden Maxima (siehe Konzentrations-Zeit-Verlauf der Glykosidaktivität, Bild 1 - 6) 1/2 - 2 Stunden und 6 - 12 Stunden post appl. im Serum gemessene mit XAD-Adsorberharz extrahierte nicht-polare Glykosidkonzentration. Die gemessenen Werte wurden um den Faktor von 7,5 (die aus 1,5 ml Serum extrahierte Glykosidmenge wurde nach dem Eintrocknen in 200 µl Leerplasma wieder aufgenommen und radioimmunologisch bestimmt) sowie um die Wiederfindungsrate korrigiert; die Werte nach subling. Applikation wurden zusätzlich auf eine Dosis von 0,8 mg umgerechnet.

In Tabelle 10 sind die Gesamtglykosidkonzentrationen im Serum und die XAD-extrahierbare Glykosidkonzentration während der beiden Peaks (1/2 - 2 Std. und 6 - 12 Std.) gegenübergestellt. Während die Glykosidkonzentration im Serum zum Zeitpunkt 1/2 - 2 Stunden $9,56 \pm 4,52$ ng/ml bei der oralen und $7,90 \pm 2,48$ ng/ml bei der subling. Applikation beträgt, waren nur $0,71 \pm 0,14$ ng/ml bzw. $0,86 \pm 0,24$ ng/ml der Glykosidkonzentration mit XAD extrahierbar. Auch zum Zeitpunkt des zweiten Peaks, 6 - 12 Stunden post appl., ist nicht-polares Glykosid, d.h. unveränderte Substanz nur in Spuren nachweisbar (oral $12,46 \pm 7,03$ ng/ml, oral nach Extraktion $0,47 \pm 0,20$ ng/ml, subling. $10,10 \pm 2,80$ ng/ml, sublin.nach Extraktion $0,56 \pm 0,60$ ng/ml).

Sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid ist die unveränderte Substanz, die ja in der nicht-polaren, mit XAD extrahierbaren Fraktion enthalten sein müßte, bereits 1/2 - 2 Stunden nach Applikation im Serum nur noch in Spuren nachweisbar; die Glykosidkonzentration, die zu diesem Zeitpunkt gemessen werden kann, ist demnach wahrscheinlich fast vollständig auf polare Metaboliten zurückzuführen. Auch zum Zeitpunkt des zweiten Maximums, 6 - 12 Stunden post appl., bei der im Mittel die Glykosidkonzentration mit $12,46 \pm 7,03$ ng/ml bei oraler und $10,10 \pm 2,80$ ng/ml bei subling. Applikation höher ist als zum Zeitpunkt des ersten Maximums (oral $9,56 \pm 4,52$ ng/ml, subl. $7,90 \pm 2,48$ ng/ml) kann unveränderte Substanz nur in Spuren nachgewiesen werden.

e) GLYKOSIDAUSSCHEIDUNG IM URIN

Tabelle 11 gibt Auskunft über die in den ersten 24 Stunden nach Applikation im Urin ausgeschiedenen Glykosidmengen. Im Mittel wurden nach oraler Applikation von 0,8 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid $18.112,68 \pm 9.939,78$ ng Glykosid ausgeschieden. Nach subling. Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid wurden nach Umrechnung auf eine Dosis von 0,8 mg im Mittel $35.225,76 \pm 9.499,15$ ng Glykosid über den Urin ausgeschieden. Die mittlere Glykosidausscheidung nach subling. Applikation ist signifikant höher als nach oraler Applikation (U-Test nach MANN und WHITNEY; Irrtumswahrscheinlichkeit = 0,02).

Es fällt auf, daß bei drei der fünf Probanden (B.W., G.M., F.S.) die nach subling. Applikation im Urin ausgeschiedenen Glykosidmengen jeweils wesentlich höher sind als bei oraler Applikation; sie beträgt bei B.W. das 4,4 fache, bei G.M. das 2,75 fache und bei F.S. das 3,5 fache der Ausscheidung nach oraler Applikation. Bei dem Probanden A.G. ist jedoch die Glykosidausscheidung im Urin nach oralen Applikation um das 1,3 fache höher als nach subling. Applikation. Bei dem Probanden B.H. wird zwar wieder nach subling. Gabe mehr ausgeschieden als nach oraler, jedoch nur das 1,4 fache der Ausscheidung nach oraler Applikation, so daß der Unterschied oral-subling. hier nicht so ausgeprägt erscheint wie bei den ersten drei Probanden. Es zeigen hier also zwei Probanden ein von den anderen drei Probanden abweichendes Verhalten, und zwar sind dies dieselben Probanden, die bei der Ermittlung der relativen Bioverfügbarkeit von den anderen drei Probanden stark abweichende Ergebnisse zeigten.

f) GLYKOSIDAUSSCHEIDUNG IM URIN NACH XAD-EXTRAKTION

Tabelle 12 und Tabelle 13 zeigen die Glykosidausscheidung im Urin nach XAD-Extraktion, d.h. den nicht-polaren Anteil der im Urin ausgeschiedenen Glykosidmenge nach oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid.

Um einen direkteren Vergleich zu ermöglichen, wurden die Werte für die subling. Applikation auf eine Dosis von 0,8 mg umgerechnet. Die gemessenen Werte wurden um den durch das Extraktionsverfahren bedingten Konzentrationsfaktor von 2,5 (die aus 0,5 ml Urin extrahierte Glykosidmenge wurde vor der radioimmunologischen Bestimmung in 200 µl Leerplasma wieder aufgenommen) sowie um die Wiederfindungsrate korrigiert. Anhand der erhaltenen Werte und der in den jeweiligen Sammelperioden von den Probanden ausgeschiedenen Urinmengen errechnen sich die in Tabelle 14 aufgeführten Werte. Tabelle 14 zeigt somit den nicht-polaren Anteil der im Zeitraum von 0 - 168 Stunden post appl. ausgeschiedenen Glykosidmengen in Nanogramm.

Nach oraler Applikation von 0,8 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid wurden im Mittel $4.251,56 \pm 4.020,33$ ng nichtpolare Glykosidmenge ausgeschieden; das sind 23,47 % der mittleren Gesamtglykosidausscheidung im Urin (Tabelle 14). Nach subling. Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid wurden umgerechnet auf eine Dosis von 0,8 mg im Mittel $8.152,41 \pm 4.705,58$ ng einer nicht-polaren Glykosidmenge ausgeschieden; das sind 23,14 % der mittleren Gesamtglykosidausscheidung im Urin (Tabelle 14). Daraus errechnet sich ein Anteil der polaren Metaboliten an der gesamten im Urin ausgeschiedenen Glykosidmenge von 76,53 % nach oraler und von 76,86 % nach subling. Applikation.

Bei den Probanden B.W., G.M. und F.S. wurden nach subling. Applikation wesentlich mehr nicht-polare Glykoside ausgeschieden (B.W. das 6,3 fache, G.M. das 5,7 fache, F.S. das 14,1 fache) als nach oraler Applikation; bei dem Probanden A.G. war die Ausscheidung nicht-polarer Glykoside jedoch nach oraler Applikation wesentlich höher als nach sublinguärer Applikation (das 8,6 fache). Bei dem Probanden B.H. war die Ausscheidung nach oraler und nach subling. Applikation ungefähr gleich. Die absoluten Werte der ausgeschiedenen Glykosidmengen sind aus Tabelle 14 zu entnehmen. Die Glykosidausscheidung von im Mittel $8.152,41 \pm 4.705,58$ ng nach subling. Applikation ist nicht signifikant höher als nach oraler Applikation ($4.252,56 \pm 4.020,33$ ng; U-Test nach MANN und WHITNEY, Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$). Tabelle 15 gibt das Verhältnis der Glykosidgesamtausscheidung zur ausgeschiedenen unveränderten Substanz wieder.

Die nicht-polare Fraktion nach XAD-Extraktion wird dabei als unveränderte Substanz angesehen. Nach oraler Applikation beträgt das Verhältnis im Mittel $6,71 \pm 4,56$ und nach subling. Applikation $7,20 \pm 7,22$. Der Unterschied ist nicht signifikant (U-Test nach MANN und WHITNEY, Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$).

Auch hier zeigt sich wieder, daß bei den drei Probanden B.W., G.M. und F.S. das Verhältnis nach oraler Applikation höher ist als nach subling. Applikation, d.h. daß bei den drei genannten Probanden nach oraler Applikation weniger unveränderte Substanz bzw. mehr polare Metaboliten ausgeschieden werden als nach subling. Applikation, bzw. daß nach subling. Applikation bei diesen Probanden der Anteil der unverändert ausgeschiedenen Substanz größer ist als nach oraler Applikation.

Bei den Probanden A.G. und B.H. ist dies wieder genau umgekehrt; diese Probanden scheiden nach subling. Applikation weniger unveränderte Substanz und damit mehr polare Metaboliten im Urin aus als nach oraler Applikation. Probanden, die eine niedrige relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten gegenüber den Oralttabletten aufweisen, zeigen nach subling. Gabe eine höhere Ausscheidung an unveränderter Substanz als nach oraler Gabe.

Probanden, bei denen die Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten hoch ist (A.G. 126,18 %, B.H. 133,62 %), scheiden nach oraler Gabe mehr unveränderte Substanz aus als nach subling. Applikation.

IV) DISKUSSION

Sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid weisen die Blutspiegelverläufe zwei Konzentrationsmaxima auf. Einem ersten Maximum folgt ein schnelles Absinken der Konzentration, um dann ein zweites, bei einigen Probanden sogar ein höheres Konzentrationsmaximum zu erreichen. Der Konzentrationsabfall erfolgt mit einer Halbwertszeit zwischen 36,2 Stunden und 198,1 Stunden bei der oralen und zwischen 22,9 Stunden 115,7 Stunden bei der subling. Applikation. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Untersuchungen von VÖHRINGER (64), der nach oraler Gabe von ^3H -Digitoxigenin-mono-digitoxosid ebenfalls einen biphasischen Verlauf der Glykosidkonzentrationen im Serum mit einem ersten Maximum, nachfolgendem schnellen Absinken und darauf folgendem zweiten Aktivitätsmaximum, daß das erste an Höhe übertraf, fand.

Zur Erklärung dieses doppelgipfligen Blutspiegelverlaufes lassen sich drei Mechanismen diskutieren:

- 1) Die Substanz sammelt sich in der Gallenblase an und wird dann bei Kontraktionen der Gallenblase (z.B. bei den Mahlzeiten) ins Duodenum ausgeschieden. Es kommt dann zur Reabsorption der Ausgangssubstanz bzw. der Metaboliten (Glucuronide) nach Abspaltung des Glucuronids durch die β -Glucuronidase. Diese im Darm befindlichen bakteriellen β -Glucuronidasen lassen nach (34) Hydrolyse von Glucuroniden wiederum lipoidlösliche Stoffe entstehen, die dann erneut resorbiert werden können ("enterohepatischer Kreislauf").
- 2) Zu den Zeitpunkten der beiden Peaks könnten verschiedene Metaboliten mit unterschiedlichen Verteilungsvolumina zur Messung gelangen. So könnte zum Zeitpunkt des ersten Peaks ein Metabolit mit relativ großer Gewebeverteilung vorliegen, der dann zu einem Metaboliten mit relativ niedriger Gewebeverteilung umgewandelt wird, wodurch die Konzentration des meßbaren Glykosids im zentralen Kompartiment ansteigt (zweiter Peak).

- 3) Da in der vorliegenden Untersuchung alle Probanden das Digitoxigenin-mono-digitoxosid etwa zur selben Tageszeit applizierten, ließe sich auch eine eventuelle Tagesrhythmik im Blutspiegelverlauf des Glykosids diskutieren.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde für das Digitoxigenin-mono-digitoxosid nach oraler Gabe eine längere Halbwertszeit von 4,8 Tagen ermittelt als bei VÖHRINGER (64), VÖHRINGER und RIETBROCK (65), der nach oraler Gabe eine Halbwertszeit von 2,3 Tagen angibt, die mit der von uns nach subling. Gabe ermittelten Halbwertszeit von 2,6 Tagen übereinstimmt.

Eine genaue Übereinstimmung ist jedoch auch nicht unbedingt zu erwarten, da VÖHRINGER ³H-Digitoxigenin-mono-digitoxosid verwandte und da das Verhalten des radioimmunologisch bestimmten Glykosids durchaus vom Verhalten des Tritium-markierten Glykosids unterschiedlich sein kann.

Für den Zeitpunkt und die Höhe des ersten bzw. zweiten Konzentrationsmaximums, die Eliminationshalbwertszeit und die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von 0 - 168 Stunden post appl. konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen oraler und subling. Applikation gefunden werden. Nach subling. Applikation war die mittlere Glykosidausscheidung im Urin in den ersten 24 Stunden entsprechend der kürzeren Halbwertszeit nach subling. Gabe signifikant höher als nach oraler Applikation.

Da Digitoxin nur in geringen Mengen zu nicht-polaren Metaboliten abgebaut wird, z.B. wird es nur zu 2 % zu Digoxin hydroxyliert (61), kann wohl davon ausgegangen werden, daß es sich nach XAD-Extraktion bei der nicht-polaren Fraktion im wesentlichen um die unveränderte Substanz handelt.

Nach XAD-Extraktion des zum Zeitpunkt der beiden Konzentrationsmaxima gewonnenen Plasmas läßt sich unveränderte Substanz bereits 1/2 - 2 Stunden nach Applikation nur noch in Spuren nachweisen. Fast die gesamte im Serum gemessene Glykosidaktivität dürfte demnach auf polare Metaboliten entfallen.

Digitoxigenin-mono-digitoxosid wird also bei beiden Applikationswegen schneller und fast vollständig metabolisiert. Diese Resultate stehen wiederum im Einklang mit den Untersuchungen von VÖHRINGER (64), VÖHRINGER und RIETBROCK (65). Unveränderte Substanz in Plasma und Urin war nur in Spuren nachzuweisen, 80 % der Gesamtradioaktivität entfielen auf CHCl_3 -unlösliche Metaboliten. Auch ABSHAGEN und RIETBROCK sowie KUHLMANN (1, 32) berichteten über eine hohe Metabolisierungsrate der Mono-Digitoxoside des Digoxins und des Digitoxins. LAUTERBACH und REPKE (37) sowie HERRMANN und REPKE (25) fanden in Leberschnitten der Ratte eine stark erhöhte Abbaugeschwindigkeit des Mono-Digitoxosids gegenüber dem Digitoxin.

Nach subling. Applikation des Mono-Digitoxosids ließ sich bereits 1/2-2 Stunden post appl. unveränderte Substanz im Plasma nur in Spuren nachweisen, was auf eine sehr schnelle und fast vollständige Metabolisierung deutet. Die raschere Metabolisierungsgeschwindigkeit nach subling. Gabe könnte die Ursache dafür sein, daß die Ausscheidung mit einer kürzeren Halbwertszeit erfolgt.

Nach XAD-Extraktion des Urins wurden nach oraler Applikation im Mittel 23,47 % und nach subling. Gabe im Mittel 23,14 % der gesamten innerhalb der ersten 24 Stunden ausgeschiedenen Glykosidmenge als nicht polar bestimmt. Es entfallen also im Urin innerhalb der ersten 24 Stunden 76,53 % (oral) bzw. 76,86 % (subling.) der radioimmunologisch bestimmten Glykosidmengen auf polare Metaboliten. Die Ausscheidung an unveränderter Substanz ist nach subling. Applikation nicht signifikant höher als nach oraler Applikation. Das Verhältnis der Glykosidgesamtausscheidung zur Ausscheidung der unveränderten Substanz ist nach oraler und subling. Applikation nicht signifikant verschieden, die Probanden A.G. und B.H. zeigen jedoch ein von den Probanden B.W., G.M. und F.S. abweichendes Verhalten.

Während die Probanden B.W., G.M. und F.S. nur eine relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten gegenüber den Oralttabletten von ca. 50 % zeigen, beträgt die Bioverfügbarkeit der Probanden A.G. und B.H. ca. 130 %. Probanden mit niedriger Bioverfügbarkeit scheiden nach subling. Gabe im Urin mehr unveränderte Substanz aus als nach oraler Gabe. Im Gegensatz dazu scheiden die Probanden mit hoher Bioverfügbarkeit nach oraler Applikation mehr unveränderte Substanz aus als nach subling. Applikation. Bei der Wertung der relativen Bioverfügbarkeit ist zu beachten, daß diese sich nicht auf die Wirkung unveränderten Glykosids bezieht, da im Serum fast ausschließlich polare Metaboliten vorliegen, die schwächer wirksam sind als die Ausgangssubstanz.

Auffallend ist das unterschiedliche Metabolisierungsverhalten der fünf Versuchspersonen sowohl in der relativen Bioverfügbarkeit als auch in der Ausscheidung von unveränderter Substanz und polaren Metaboliten im Urin. Insgesamt wird Digitoxigenin-mono-digitoxosid nach oraler und subling. Applikation zwar unterschiedlich aber schnell und fast vollständig metabolisiert, so daß bereits 1/2 - 2 Stunden post appl. fast nur noch polare Metaboliten im Serum nachweisbar sind.

Aufgrund dieser Ergebnisse kann für die schnelle Metabolisierung des oral applizierten Mono-Digitoxosids kein First-Pass-Effekt in der Leber verantwortlich gemacht werden, da dieser Effekt nach subling. Gabe nicht zu erwarten wäre. Im Serum sind jedoch auch nach subling. Applikation nach 1/2 - 2 Stunden fast ausschließlich polare Metaboliten nachweisbar.

. V) Z U S A M M E N F A S S U N G

Sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid weisen die Blut-Konzentrationsverläufe zwei Konzentrationsmaxima auf. Einem ersten Maximum nach $1,5 \pm 0,7$ Stunden bei oraler und nach $1,9 \pm 1,3$ Stunden bei subling. Applikation folgt ein schnelles Absinken der Konzentration, um dann ein zweites, bei einigen Probanden das erste an Höhe übertreffende Konzentrationsmaximum nach $8,8 \pm 3,0$ Stunden bei oraler und $12,0 \pm 6,9$ Stunden bei subling. Applikation zu erreichen. Der Konzentrationsabfall nach dem 2. Maximum erfolgt mit einer Halbwertszeit zwischen 36,2 Stunden und 198,1 Stunden bei oraler und zwischen 22,9 Stunden und 115,7 Stunden bei subling. Applikation.

Nach oraler Applikation von 0,8 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid fand sich das erste Konzentrationsmaximum im Serum im Mittel $1,5 \pm 0,7$ Stunden nach Applikation mit $11,7 \pm 5,0$ ng/ml. Das zweite Konzentrationsmaximum fand sich mit $14,6 \pm 7,8$ ng/ml nach durchschnittlich $8,8 \pm 3,0$ Stunden. Nach subling. Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid fand sich nach im Mittel $1,9 \pm 1,3$ Stunden ein erstes Konzentrationsmaximum von $7,7 \pm 2,3$ ng/ml, dem nach durchschnittlich $12,0 \pm 6,9$ Stunden ein zweites Maximum von $8,4 \pm 1,9$ ng/ml folgte. Für den Zeitpunkt und die Höhe des 1. und 2. Konzentrationsmaximums, die Eliminationshalbwertszeit und für die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve in der Zeit von 0 - 168 Stunden post appl. konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen oraler und subling. Applikation gefunden werden.

Nach subling. Applikation war die Glykosidausscheidung im Urin in den ersten 24 Stunden signifikant höher als nach oraler Applikation.

Nach XAD-Extraktion des Serums zum Zeitpunkt der beiden Konzentrationsmaxima ist unveränderte Substanz bereits 1/2 - 2 Stunden nach Applikation nur noch in Spuren nachzuweisen, so daß fast die gesamte im Serum gemessene Glykosidkonzentration auf polare Metabolite zurückzuführen sein dürfte. Es kommt also nach Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation zu einem schnellen und fast vollständigen Abbau des Glykosids.

Nach XAD-Extraktion des Urins wurden nach oraler Applikation im Mittel 23,5 % und nach subling. Applikation im Mittel 23,1 % der gesamten innerhalb der ersten 24 Stunden ausgeschiedenen Glykosidmenge als nicht-polar bestimmt. Es entfallen innerhalb der ersten 24 Stunden 76,5 % (oral) bzw. 76,9 % (subl.) der radioimmunologisch bestimmten Glykosidkonzentration auf polare Metaboliten.

Die Ausscheidung im Urin an unveränderter Substanz ist nach oraler und nach subling. Applikation nicht signifikant unterschiedlich. Auch das Verhältnis der Glykosidgesamtausscheidung im Urin zur im Urin ausgeschiedenen unveränderten Substanz ist nach oraler und nach subling. Applikation nicht signifikant verschieden.

Während zwei Versuchspersonen eine relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten gegenüber den Oralttabletten von ca. 50 % zeigen, beträgt die Bioverfügbarkeit bei den übrigen drei Probanden ca. 130 %.

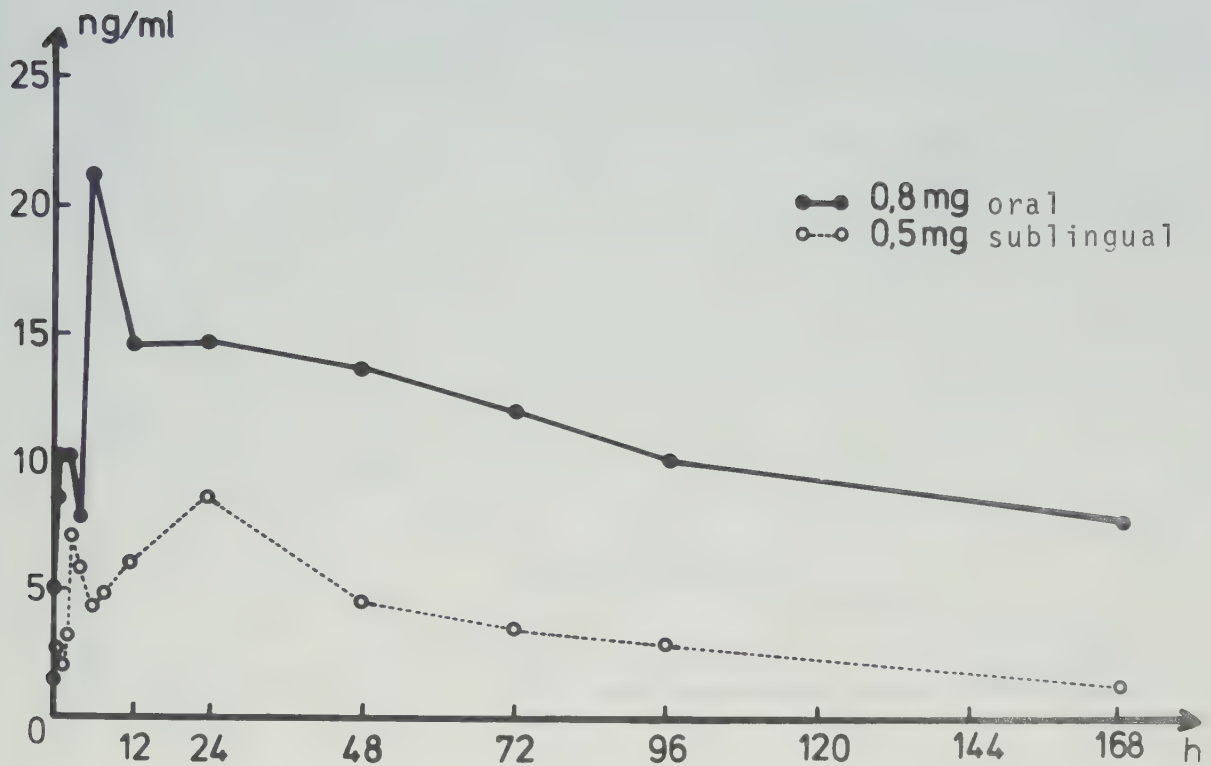


Bild 1: Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid (Proband B.W.).

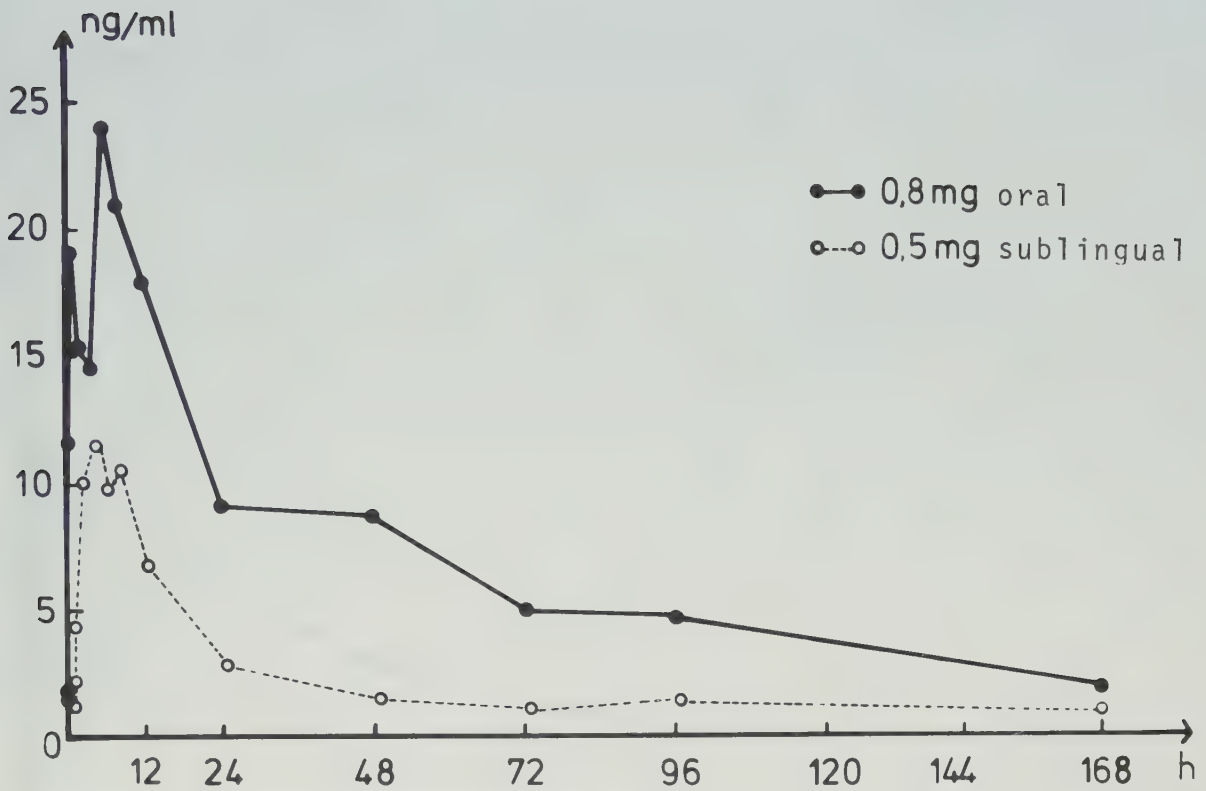


Bild 2: Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid (Proband G.M.).

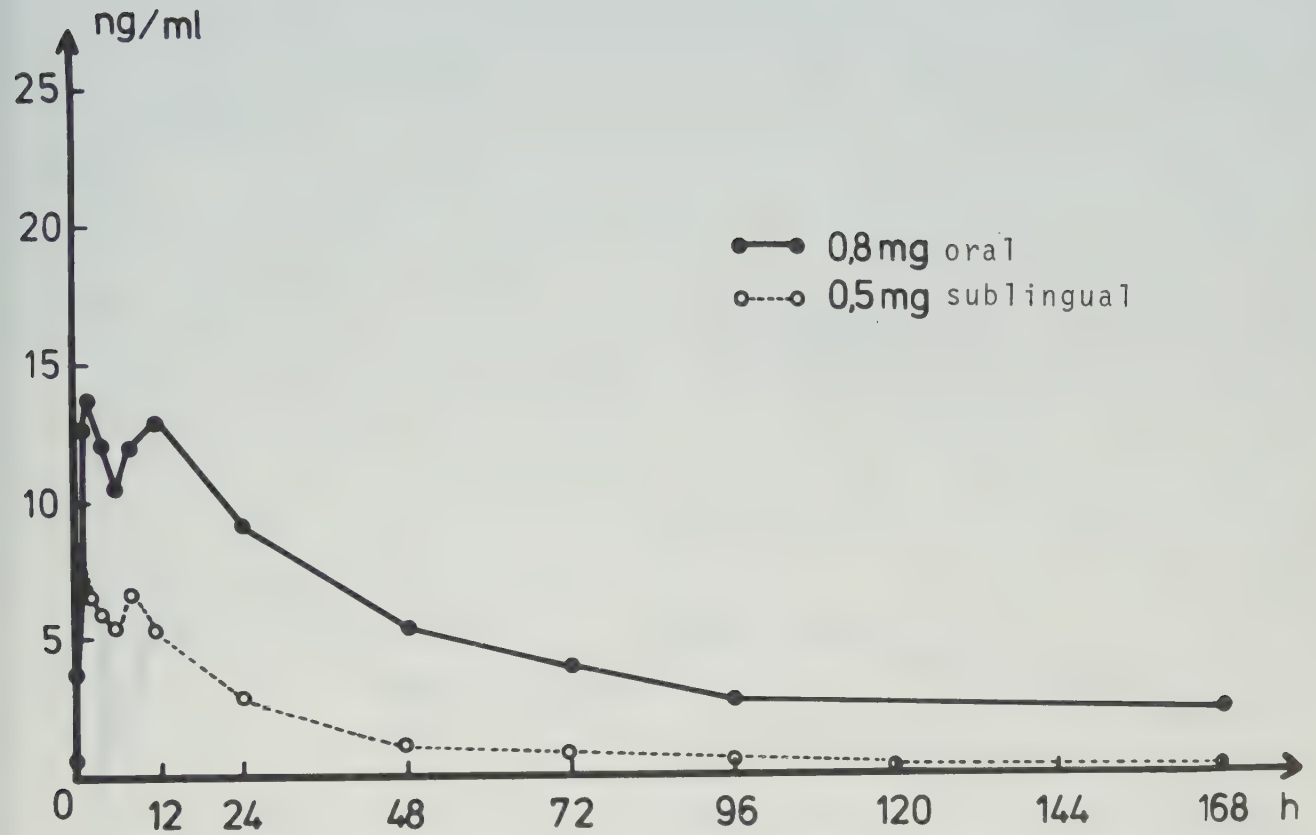


Bild 3: Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid (Proband F.S.).

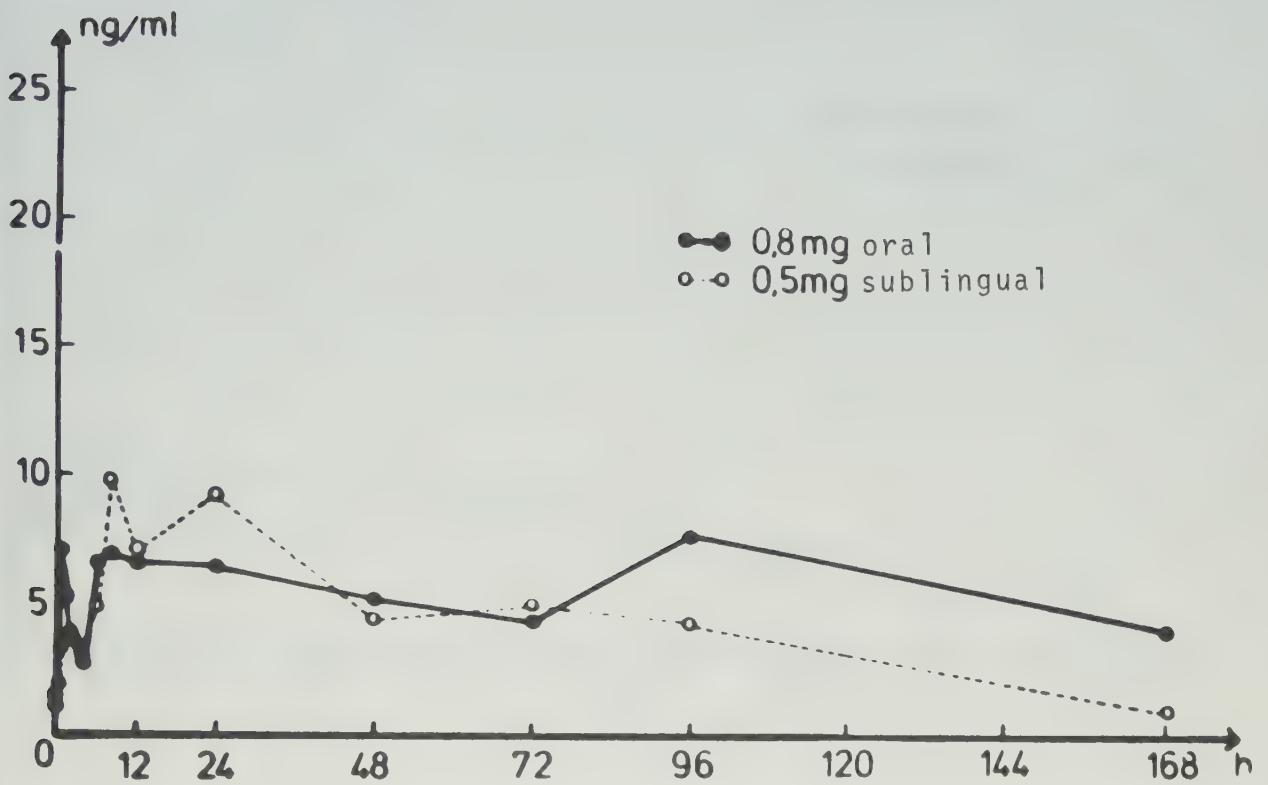


Bild 4: Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid (Proband A.G.).

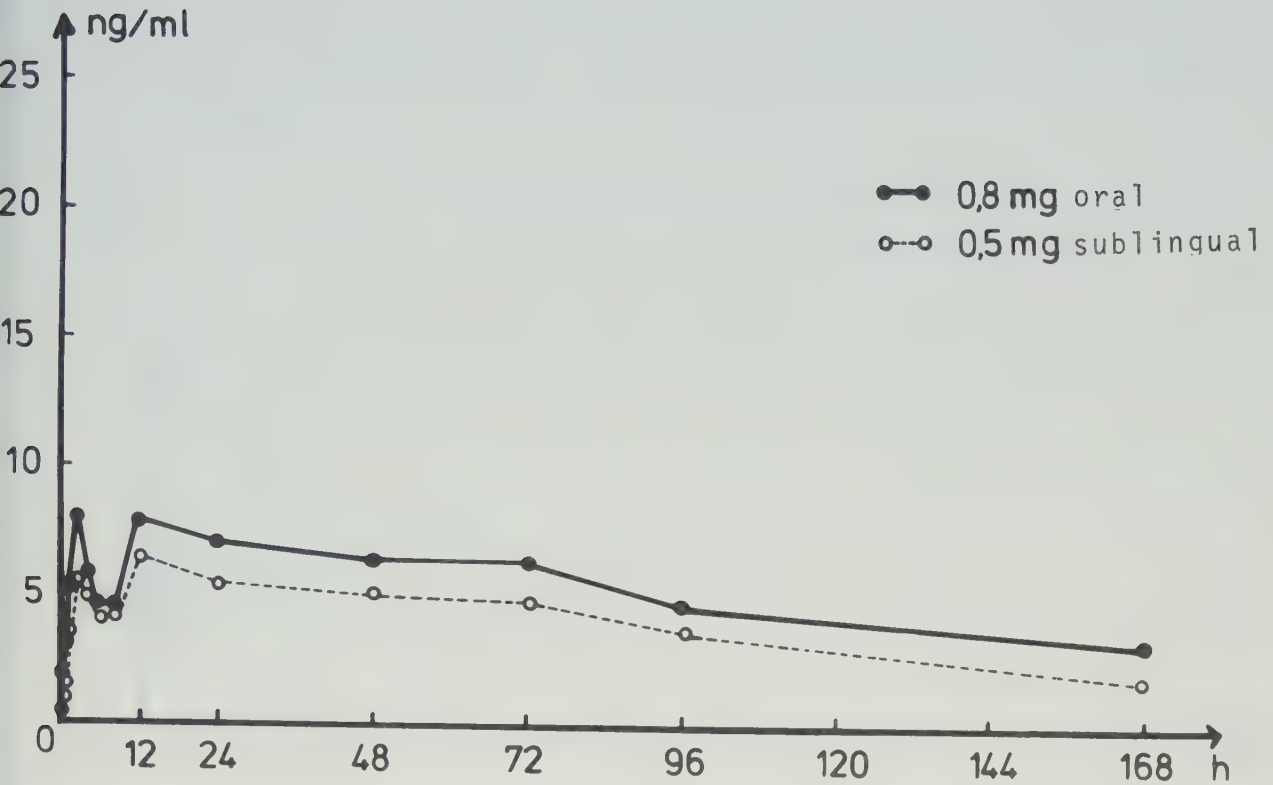


Bild 5: Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid (Proband B.H.).

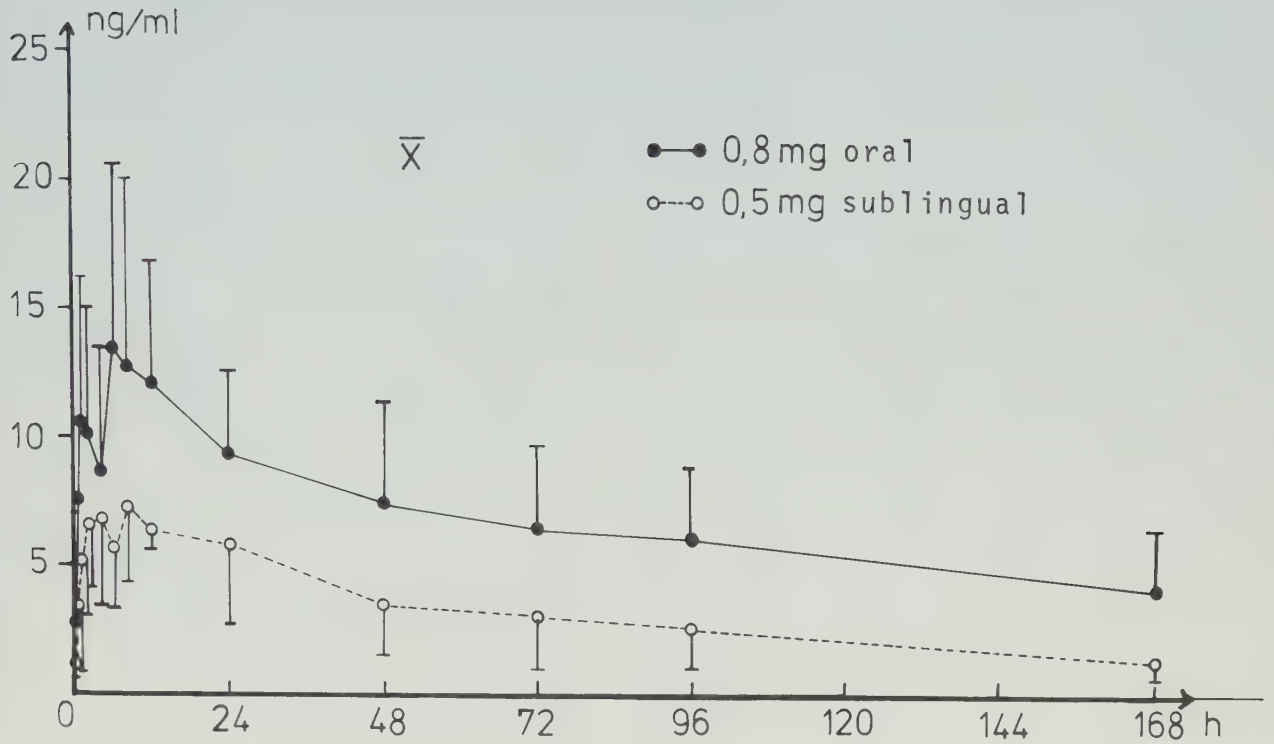


Bild 6: Mittelwerte der Glykosidkonzentration im Serum bei $n = 5$ Probanden nach einmaliger, oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid.

Aus Platzgründen wurden die Standardabweichungen jeweils nur nach einer Seite aufgetragen.

Proband	Ges.-Eiweiß (g/dl)	SGOT (U/l)	SGPT (U/l)	γ-GT (U/l)	AP (U/l)	Bilirubin (mg/dl)	Harnsäure (mg/dl)	Harnstoff (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Albumin (g/dl)
B.W.	7,3	23	18	8	90	0,9	5,7	33	1,2	4,5
G.M.	8,2	15	15	9	111	0,5	4,5	28	0,7	4,7
F.S.	6,9	16	19	12	130	0,8	6,1	22	0,9	4,7
A.G.	7,9	14	16	11	118	1,0	3,8	44	1,0	5,2
B.H.	7,8	12	13	13	92	0,6	4,6	42	1,1	4,8

Tabelle 2: Laborchemische Parameter der fünf Probanden

WIEDERFINDUNGSRATE IM SERUM

Untersucht wurden 10 Kontrollseren mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 16 ng/ml.

Kontrollserum	Gemessener Glykosidgehalt in ng/ml	Wiedergefundene Glykosidmenge in ng/ml
1	14,0	9,5
2	14,3	8,7
3	15,4	9,6
4	15,6	10,3
5	19,7	12,3
6	18,5	13,2
7	18,3	15,5
8	15,6	8,4
9	16,3	10,9
10	15,4	10,4
$\bar{X}$	16,31	10,88
$\pm$	1,89	2,21

Tabelle 3: Ermittlung der Wiederfindungsrate im Serum nach XAD-Extraktion.

Es errechnet sich eine Wiederfindungsrate von 66,71 %.

WIEDERFINDUNGSRATE IM URIN

Untersucht wurden 10 Kontrollproben mit einem nach Einwaage hergestellten Digitoxigenin-mono-digitoxosid-Gehalt von 30 ng/ml.

Kontroll- probe	Gemessener Glykosid- gehalt in ng/ml	Wiedergefundene Glykosid- menge in ng/ml
1	32,6	16,1
2	34,9	18,9
3	30,7	14,8
4	29,4	13,9
5	27,7	12,9
6	28,3	13,8
7	27,4	11,2
8	30,9	15,1
9	31,5	15,3
10	32,7	17,6
$\bar{X}$	30,61	14,96
$\pm$	2,43	2,23

Tabelle 4: Ermittlung der Wiederfindungsrate im Urin nach XAD-Extraktion.

Es errechnet sich eine Wiederfindungsrate von 48,87 %.

	S T U N D E N N A C H A P P L I K A T I O N												
	0	1/2	1	2	4	6	8	12	24	48	72	96	168
Proband													
B.W.	5,1	8,6	10,2	10,3	7,8	21,2	19,0	14,6	14,7	13,7	12,1	10,2	8,1 ng/ml
G.M.	1,8	11,7	19,2	15,4	14,6	24,0	21,0	18,0	9,2	8,8	5,1	4,8	2,1 ng/ml
F.S.	3,7	7,0	12,7	13,8	12,1	10,5	12,0	12,9	9,2	5,2	3,9	2,8	2,5 ng/ml
A.G.	1,1	7,0	5,2	3,5	2,6	6,5	6,8	6,5	6,4	5,1	4,3	7,6	4,1 ng/ml
B.H.	1,8	3,2	5,2	8,0	5,9	4,7	4,7	7,9	7,1	6,4	6,4	4,8	3,7 ng/ml
$\bar{X}$	2,7	7,5	10,5	10,2	8,6	13,4	12,7	12,0	9,3	7,8	6,4	6,0	4,1 ng/ml
$\pm$	1,65	3,08	5,85	4,74	4,80	7,25	7,21	4,76	3,26	3,60	3,35	2,89	2,38 ng/ml

Tabelle 5: Konzentrations-Zeit-Verlauf der Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, oraler Applikation von 0,8 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei n = 5 Probanden.

	STUNDEN NACH APPLIKATION												
	0	1/2	1	2	4	6	8	12	24	48	72	96	168
Proband													
B.W.	1,5	2,1	3,2	7,2	5,9	4,3	5,0	6,2	8,8	4,7	3,7	3,1	1,8 ng/ml
G.M.	1,4	2,2	4,3	10,0	11,5	9,7	10,5	6,8	2,8	1,5	1,0	1,4	1,1 ng/ml
F.S.	0,5	7,8	7,5	6,6	5,9	5,3	6,6	5,3	2,8	1,1	0,7	0,5	0,2 ng/ml
A.G.	1,2	3,2	6,7	3,5	2,8	4,9	9,8	7,0	9,3	4,4	5,0	4,3	1,2 ng/ml
B.H.	0,4	1,5	3,5	5,4	4,8	4,0	4,1	6,4	5,4	5,1	4,8	3,7	2,1 ng/ml
$\bar{X}$	1,0	3,3	5,0	6,5	6,7	5,6	7,2	6,3	5,8	3,4	3,0	2,6	1,3 ng/ml
$\pm$	0,46	2,56	1,94	2,40	3,28	2,33	2,85	0,66	3,14	1,90	2,06	1,60	0,73 ng/ml

Tabelle 6: Konzentrations-Zeit-Verlauf der Glykosidkonzentration im Serum nach einmaliger, subling. Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei n = 5 Probanden.

Proband	$t_{\max 1}$ (h)	$c_{\max 1}$ (ng/ml)	$t_{\max 2}$ (h)	$c_{\max 2}$ (ng/ml)	$t_{1/2EL.}$ (h)	$AUC_{0-168 h}$
B.W.	2	10,3	6	21,2	157,2	1.925,475
G.M.	1	19,2	6	24,0	39,9	1.133,200
F.S.	2	13,8	12	12,9	36,2	827,450
A.G.	0,5	7,0	8	6,8	198,1	956,725
B.H.	2	8,0	12	7,9	144,3	915,050
$\bar{X}$	1,5	11,66	8,8	14,56		
$\pm$	0,71	4,96	3,03	7,75		

Tabelle 7: Pharmakokinetische Parameter von Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei n = 5 Probanden nach einmaliger, oraler Applikation von 0,8 mg.

- $t_{\max 1}$ = Zeitpunkt des ersten Konzentrationsmaximums
- $c_{\max 1}$ = Glykosidkonzentration im Serum zum Zeitpunkt $t_{\max 1}$
- $t_{\max 2}$, $c_{\max 2}$ = entsprechend für das zweite Konzentrationsmaximum
- $t_{1/2 EL.}$ = Eliminationshalbwertszeit, 24. - 168. Stunde
- $AUC_{0 - 168}$ = Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von 0 - 168 Stunden

Proband	$t_{\max 1}$ (h)	$c_{\max 1}$ (ng/ml)	$t_{\max 2}$ (h)	$c_{\max 2}$ (ng/ml)	$t_{1/2}$ EL. (h)	AUC_{0-168} h
B.W.	2	7,2	24	8,8	47,5	673,230
G.M.	4	11,5	8	10,5	77,6	365,175
F.S.	0,5	7,8	8	6,6	22,9	228,950
A.G.	1	6,7	8	9,8	54,4	754,475
B.H.	2	5,4	12	6,4	115,7	680,676
$\bar{X}$	1,9	7,72	12	8,42		
$\pm$	1,34	2,29	6,93	1,86		

Tabelle 8: Pharmakokinetische Parameter von Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei n = 5 Probanden nach einmaliger, subling. Applikation von 0,5 mg.

- $t_{\max 1}$ = Zeitpunkt des ersten Konzentrationsmaximums
 $c_{\max 1}$ = Glykosidkonzentration im Serum zum Zeitpunkt $t_{\max 1}$
 $t_{\max 2}, c_{\max 2}$ = entsprechend für das zweite Konzentrationsmaximum
 $t_{1/2}$ EL. = Eliminationshalbwertszeit, 24. - 168. Stunde
 AUC_{0-168} = Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve von 0 - 168 Stunden

Proband	Korrigiert um Konzentrationsfaktor und Wiederfindungsrate sowie bezogen auf eine Dosis von 0,8 mg		
	1/2 - 2 h	6 - 12 h	1/2 - 2 h
B.W. oral	3,4	1,3	0,68
B.W. subling.	1,8	0	0,58
G.M. oral	4,0	1,8	0,80
G.M. subling.	2,1	0	0,67
F.S. oral	2,4	1,9	0,48
F.S. subling.	2,8	1,4	0,90
A.G. oral	3,8	3,4	0,76
A.G. subling.	3,2	3,4	1,02
B.H. oral	4,2	3,4	0,84
B.H. subling.	3,6	4,0	1,15

Tabelle 9: Mit XAD extrahierte Glykosidkonzentration im Serum. Alle Angaben in ng/ml.

Proband	1/2		2 h		6		12 h	
	Glykosidkonzentration im Serum in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum nach XAD- Extraktion in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum nach XAD- Extraktion in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum nach XAD- Extraktion in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum in ng/ml	Glykosidkonzentration im Serum nach XAD- Extraktion in ng/ml
B.W. oral	9,5	0,68			18,0	0,26		
B.W. subl.	7,0	0,58			8,4	0		
G.M. oral	15,9	0,80			21,3	0,36		
G.M. subl.	8,3	0,67			14,1	0		
F.S. oral	11,8	0,48			11,3	0,38		
F.S. subl.	11,9	0,90			9,0	0,45		
A.G. oral	5,5	0,76			6,2	0,68		
A.G. subl.	7,0	1,02			11,8	1,09		
B.H. oral	5,1	0,84			5,5	0,68		
B.H. subl.	5,3	1,15			7,2	1,28		
$\bar{X}$ oral	9,56	0,71			12,46	0,47		
$\pm$ oral	4,52	0,14			7,03	0,20		
$\bar{X}$ subl.	7,90	0,86			10,10	0,56		
$\pm$ subl.	2,48	0,24			2,80	0,60		

Tabelle 10: Gegenüberstellung der Glykosidkonzentration im Serum in den Zeiträumen 1/2 - 2 Stunden und 6 - 12 Stunden post appl. und der mit XAD extrahierten Glykosidkonzentration im Serum in denselben Zeiträumen nach oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid bei n = 5 Probanden. In den Werten "nach XAD-Extraktion" wurden der Konzentrationsfaktor und die Wiederfindungsrate bereits berücksichtigt. Die Werte für die subling. Applikation wurden umgerechnet auf eine Dosis von 0,8 mg.

Proband	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	Gesamtausscheidung im Urin von 0 - 24 Stunden post appl.
B.W. oral	176,40	4292,00	432,00	2738,00	7.638,40
B.W. subling.	8892,00	5600,00	10880,00	8396,80	33.768,80
G.M. oral	4641,00	3108,00	8760,00	1820,00	18.329,00
G.M. subling.	2064,00	11520,00	14920,00	21902,40	50.406,40
F.S. oral	2365,00	5700,00	262,50	900,00	9.227,50
F.S. subling.	1740,80	10384,00	13395,20	7360,00	32.880,00
A.G. oral	2940,00	23316,09	1053,00	4088,00	31.397,00
A.G. subling.	4896,00	787,20	8395,20	10067,20	24.145,60
B.H. oral	3087,50	6460,00	6424,00	8000,00	23.971,50
B.H. subling.	2868,80	10304,00	9422,40	12332,80	34.928,00
$\bar{X}$ oral	2641,98	8575,20	3386,30	3509,20	18.112,68
$\pm$ oral	1615,49	8340,69	3938,10	2480,26	9.939,78
$\bar{X}$ subling.	4092,32	7719,04	11402,56	12011,84	35.225,76
$\pm$ subling.	2950,57	4493,66	2719,44	5839,86	9.499,15

Tabelle 11: Ausgeschiedene Glykosidmenge im Urin nach oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid. Die Werte für die subling. Applikation wurden umgerechnet auf eine Dosis von 0,8 mg. Alle Angaben in Nanogramm.

Proband	Gemessene Glykosidausscheidung im Urin in ng/ml				Um Konzentrationsfaktor und Wiederfindungsrate korrigierte Glykosidausscheidung im Urin in ng/ml				Ausgeschiedene Urinmenge in ml			
	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h
B.W.	2,4	1,7	1,0	1,1	1,96	1,33	0,82	0,90	18	740	270	370
G.M.	3,6	4,6	2,0	1,3	2,95	3,77	1,64	1,06	210	120	600	350
F.S.	6,2	1,3	1,0	1,3	5,07	1,06	0,82	1,06	50	250	25	100
A.G.	1,0	21,0	1,2	1,4	0,82	17,19	0,98	1,15	200	580	45	140
B.H.	17,4	12,6	4,2	3,6	14,24	10,31	3,40	2,93	95	190	440	500
$\bar{X}$	6,12	8,24	1,88	1,74	5,01	6,73	1,53	1,42	114,60	376,00	276,00	292,00
$\pm$	6,59	8,46	1,36	1,05	5,39	6,93	1,10	0,85	87,01	269,31	249,13	167,84

Tabelle 12: Mit XAD extrahierte Glykosidmenge im Urin nach oraler Applikation von
0,8 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid.

Proband	Gemessene Glykosidausscheidung im Urin in ng/ml				Um Konzentrationsfaktor und Wiederfindungsrate korrigierte Glykosidausscheidung im Urin in ng/ml				Ausgeschiedene Urinmenge in ml			
	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h
B.W.	9,4	3,2	5,8	1,9	7,69	2,62	4,75	1,56	195	700	400	640
G.M.	2,3	28,6	10,0	11,2	1,88	23,41	8,19	9,17	150	120	250	390
F.S.	2,3	20,0	12,2	3,0	1,88	16,37	9,99	2,46	160	110	260	400
A.G.	1,6	1,2	1,1	1,4	1,31	0,98	0,90	1,15	90	40	330	260
B.H.	6,5	7,2	2,8	1,9	5,30	5,89	2,29	1,54	110	230	390	820
$\bar{X}$	4,42	12,04	6,38	3,88	3,61	9,85	5,22	3,18	141,00	240,00	326,00	502,00
$\pm$	3,39	11,80	4,69	4,13	2,77	9,66	3,84	3,39	41,59	265,99	70,21	224,54

Tabelle 13: Mit XAD extrahierte Glykosidmenge im Urin nach subling. Applikation von 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid.

Proband	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	Gesamtausscheidung im Urin von 0 - 24 Stunden post appl.
B.W. oral	35,28	984,20	221,40	333,00	1.573,88
B.W. subling.	2399,28	2934,40	3040,00	1597,44	9.971,12
G.M. oral	619,50	452,40	984,00	371,00	2.426,90
G.M. subling.	451,20	4494,72	3276,00	5722,08	13.944,00
F.S. oral	253,50	265,00	20,50	106,00	645,00
F.S. subling.	481,28	2881,12	4155,84	1574,40	9.092,64
A.G. oral	164,00	9970,20	44,10	161,00	10.339,30
A.G. subling.	188,64	62,72	475,20	478,40	1.204,96
B.H. oral	1352,80	1958,90	1496,00	1465,00	6.272,70
B.H. subling.	932,80	2167,52	1428,96	2020,40	6.549,76
$\bar{X}$ oral	485,02	2726,14	2766,00	487,20	4.251,56
$\pm$ oral	531,52	4102,64	657,17	557,92	4.020,33
$\bar{X}$ subling.	890,64	2508,01	2475,20	2278,56	8.152,41
$\pm$ subling.	884,77	1609,61	1489,92	2007,78	4.705,58

Tabelle 14: Mit XAD extrahierbare Glykosidmenge im Urin nach oraler bzw. subling. Applikation von 0,8 mg bzw. 0,5 mg Digitoxigenin-mono-digitoxosid. Die Werte sind korrigiert um den durch das Extraktionsverfahren bedingten Konzentrationsfaktor sowie um die Wiederfindungsrate. Die Werte für die subling. Applikation wurden umgerechnet auf eine Dosis von 0,8 mg. Alle Werte in Nanogramm.

VERHÄLTNIS GLYKOSIDGESAMTAUSSCHIEDUNG IM URIN
IM URIN AUSGESCHIEDENE UNVERÄNDERTE SUBSTANZ

Proband	oral	subling.
B.W.	4,85	3,39
G.M.	7,55	3,62
F.S.	14,31	3,62
A.G.	3,04	20,03
B.H.	3,82	5,33
$\bar{X}$	6,71	7,20
$\pm$	4,58	7,22

Tabelle 15

LITERATURVERZEICHNIS

1. ABSHAGEN, U., Rietbrock, N.

Metabolism of digoxigenin, digoxigenin-mono-digitoxosid and digoxigenin-bis-digitoxosid in rats
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 276, 157 (1973)

2. ASHLEY, J.J., Brown, B.T.,
Okita, G.T., Wright, S.E.,

The metabolites of cardiac glykosides in human urin
J.Biol.Chem. 232, 315 (1958)

3. BACH, E.J., Reiter, M.,

Der Einfluß der Hydrierung des Lacton-ringes von Quabain und Digoxin auf die letale Wirkung am Meerschweinchen und auf die inotrope Wirkung am isolierten Papillarmuskel
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Exp.Pathol. Pharmacol. 248, 334 (1964)

4. BELZ, G.G., Heinz, N.,

The influence of polar and non-polar digoxin and digitoxin metabolites on the ⁸⁶Rb-uptake of human erythrocytes and the contractility of guinea pig papillary muscles
Arzneim.Forschung 27, (3), 653 (1977)

5. BESCH, H.R.Jr.,
Watanabe, A.M.,

Relationship of onset of inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase to structure of cardiac glycosides: studies with natural and semisynthetisk cardenolids
Fed.Proc. 33, 504 (1974)

6. Fa. BIERMANN, Med. Systeme GmbH,
Bad Nauheim

Beipackzettel zum Diagnostic-Products
Digitoxin-RIA J-125
7. BODEM, G., Unruh, E.,

Dihydrodigitoxin, a metabolite of
digitoxin in humans
In: Bodem, Dengler (eds.), international
Symposium on Cardiac Glykosides,
Seite 74, Springer Verlag (1978)
8. BODEM, G., Unruh, E.,

Enhanced transformation of digitoxin
to dihydrodigitoxin in humans with
renal failure
J.Clin.Pharmacol. 19, (4), 195 (1979)
9. BÖTTCHER, H., Lüllmann, H.,
Proppe, D.,

Comparison of digoxin with some digi-
toxin metabolites on cat heart lung
preparation
Europ.J.Pharmacol. 22, 109 (1973)
10. BULGER, W.H., Stohs, S.J.,

5-Hydroxydigitoxigenin - a metabolite
of digitoxigenin by rabbit liver homo-
genates
Biochem.Pharmacol. 22, 1745 (1973)
11. CALDWELL, R.W., Nash, C.B.,

Pharmacological studies of a new
4-aminosugar cardiac glykoside (ASI-222)
J.Pharmacol.Exp.Ther. 197, (1), 19
(1976)

12. CASTLE, M.C., Digitoxin metabolism by rat liver homogenates, subcellular fractions and isolated hepatocytes: Stimulation by Spironolactone and Pregnenolone-16 α -Carbonitrile
J.Pharm.Exp.Ther. 211, 120 (1979)
13. CASTLE, M.C., Lage, G.L., Recretion of ^3H -digitoxin and its metabolites following spironolactone pretreatment in rats
Drug Metabol.Disp. 1, 590 (1973)
14. CASTLE, M.C., Lage, G.L., ^3H -digitoxin and its metabolites following spironolactone pretreatments of rats
Res.comm.chem.Pathol.Pharmacol. 6, 601 (1973)
15. CASTLE, M.C., Lage, G.L., Cleavage by β -glucoronidase of the water-soluble metabolites of digitoxin in the bile of control and spironolactone-pretreated rats
Toxicol.Appl.Pharmacol. 27, 641 (1974)
16. CLARK, D.R., Kalman, S.M., Dihydroxigoxin - a common metabolite of digoxin in man
Drug Metab.Disp. 2, 148 (1974)

17. CLARK, A.G., Fischer, L.J.,
Millburn, P., Smith, R.L.,
Williams, R.T., The role of gut flora in the enterohepa-
tic circulation of stilboestrol in the
rat
Biochem.J. 112, 17 P (1969)
18. Fa. CILINCAL Assays, Division
of Travenol Laboratories, Inc.
Cambridge, Massachusetts 02139 Beipackzettel zu GammaCoat ¹²⁵J Digitoxin
RIA-Kit
19. DE MEIO, R.H., Lewycka, Ch.,
Wizerkaniuk, M., Salciunas, O., Biological synthesis of sulphuric acid
esters of steroid hormones or their
metabolites
Biochem.J. 68, 1 (1958)
20. FISCHER, G.S., Sjoerdsma, A.,
Johnson, R., The tissue distribution and excretion
of radioactive digitoxin. Studies on
normal rats and cats and rats with die-
tary induced myocardial lesions
Circulation 5, 496 (1952)
21. FISCHER, L.J., Kent, T.H.,
Weissinger, J.L., Absorption of diethylstilbestrol and
its glucuronide conjugate from the
intestines of five- and twenty-five-
day-old rats
J.Pharmacol.exp.Ther. 185, 163 (1973)
22. FISHMAN, W.H., Sie, H.G., Formation of testosterone glucuronide
by surviving liver slices
J.Biol.Chem. 218, 335 (1956)

23. GREENWOOD, H., Snedden, W.,
Hayward, R.P., London, J.,
The measurement of urinary digoxin and
dihydrodigoxin by radioimmunoassay and
by mass spectroscopy
Clin.Chem.Acta 62, (2), 213 (1975)
24. HARMS, V.,
Biomathematik, Statistik und Dokumen-
tation.
Harms-Verlag Kiel, 2. Auflage, S 75 f
(1979)
25. HERRMANN, I., Repke, K.,
Über das Glucuronsäurekonjugat eines
Cardenolidgenins (3-Epi-digitoxigenin)
Experientia 19, 472 (1963)
26. HERRMANN, I., Repke, K.,
Über die Biotransformation von Digito-
xin und Digitoxigenin in der mensch-
lichen Leber
Monatsber.Dtsch.Akad.Wissenschaften
Berlin, 5, 140 (1963)
27. HERRMANN, I., Repke, K.,
Über die Speciesunterschiede in der Bio-
transformation von Digitoxin
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 247, 35 (1964)
28. HERRMANN, I., Repke, K.,
Konjugation von Cardenolidgeninen mit
Schwefelsäure oder Glucuronsäure
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 248, 370 (1964)

29. KLEMPIEN, E.J., Voigt, K.D.,
Tamm, J.,
Der Umsatz von Dehydroisoandrosteron
in der Hundeleber
Acta endocr. 36, 498 (1961)
30. KLOTZ, U.,
Klinische Pharmakokinetik
G. Fischer-Verlag Stuttgart, S. 9 ff
(1979)
31. KRONEBERG, G., Schaumann, W.,
Stoepel, K.,
Duration of the effect and enteral
absorption of digitoxigenin-mono-di-
gitoxosid
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 243, 91 (1962)
32. KUHLMANN, J., Abshagen, U.,
Rietbrock, N.,
Pharmacokinetics and metabolism of
digitoxigenin-mono-digitoxoside in man
Europ.J.Clin.Pharmacol. 7, 87 (1974)
33. KUHLMANN, J.,
Metabolismus von Digitoxin
In: Digitalistherapie bei Herzinsuffi-
zienz
Herausgeber: Kochsiek, Rietbrock
Urban und Schwarzenberg, Seite 9 ff
(1981)
34. KURZ, H., Neumann, H.-G.,
Forth, W., Henschler, D.,
Rummel, W.,
Allgemeine Pharmakologie: Wirkungen
des Organismus auf Pharmaka. In: All-
gemeine und spezielle Pharmakologie
und Toxikologie. Herausgeber: W. Forth,
D. Henschler, W. Rummel. Wissenschafts-
verlag/Bibliographisches Institut,
Mannheim/Wien/Zürich, 3. Auflage,
Seite 53, (1980)

35. KUSCHINSKY, G., Lüllmann, H., Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage, Seite 104 ff Thieme-Verlag Stuttgart (1978)
36. LAGE, G.L., Spratt, J.L., ^3H -Digoxin metabolism by adult male rat tissues in vitro J.Pharmacol.exp.Ther. 169, 255 (1965)
37. LAUTERBACH, F., Repke, K., Die fermentative Abspaltung von D-Digitoxose, D-Cymarose und L-Thevetose aus Herzglykosiden durch Leberschnitte Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path. Pharmak. 239, 196 (1960)
38. LUCHI, R.J., Gruber, J.W., Unusually large digitalis requirements. A study of altered digoxin metabolism Amer.J.Med. 45, 322 (1968)
39. LÜLLMANN, H., Peters, T., The cardioactivity of digitoxin metabolites Europ.J.Immunol. 14, 204 (1971)
40. LÜLLMANN, H., Ravens The time courses of the changes in contractile force and in transmembrane potentials induced by cardiac glykosides in guinea-pig papillary muscle Br.J.Pharmacol. 49, 377 (1973)

41. OKITA, G.T., Kelsey, F.E.,
Talso, P.J., Smith, L.B.,
Gailing, E.M.K.,
Studies on the renal excretion of
radioaktive digitoxin in human sub-
jects with cardiac failure
Circulation 7, 161 (1953)
42. PETERS, U., Falk, L.C.,
Kalman, S.M.,
Digoxin metabolism in patients
Arch.Intern.Med. 138, 1074 (1978)
43. RAMM, B., Hofmann, G.,
Biomathematik und Medizinische Stati-
stik.
Enke-Verlag Stuttgart (1976)
44. REPKE, K.,
Die chemische Bestimmung von Digitoxin
in Geweben und Ausscheidungen.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 233, 261 (1958)
45. REPKE, K., Lauterbach, F.,
Über Digitalis-Entgiftung
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschung 25,
290 (1959)
46. REPKE, K., Roth, L.,
Kluszczewski, S.,
Die bis- und mono-digitoxoside des
Digitoxigenins und Digoxigenins: Meta-
boliten des Digitoxins
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 237, 155 (1959)

47. REPKE, K., Kleszczewski, S.,
Roth, L., Über Spaltung und Hydroxylierung von
Digitoxin bei der Ratte.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.
Pharmak. 237, 34 (1959)
48. REPKE, K., Samuels, L.T., Enzymatic basis for epimerization of
cardiotonic steroids at carbon 3 in
rat liver
Biochemistry 3, 689 (1964)
49. REPKE, K., Stoffwechsel und Wirkung von Digitalis-
glykosiden.
Öst.Apoth.Ztg. 24, 515 (1970)
50. REPKE, K., Biochemische Grundlagen der Entwick-
lung neuartiger Herzmittel des Digi-
talistyps.
Pharmazie 27, 693 (1972)
51. RICHARDS, L.G., Castle, M.C.,
Lage, G.L. Glucuronidation of digitoxin and its
derivatives by rat and rabbit liver
homogenates
Drug Metab.Disp. 5, 469 (1977)
52. RIETBROCK, N., Vöhringer, H.F.,
Kuhlmann, J., Der Metabolismus herzwirksamer Glyko-
side.
Herz/Kreislauf 9, (14), 825 (1977)

53. ROY, A.B., The enzymic synthesis of steroid sul-
fates
Biochem J. 63, 294 (1956)
54. SCHMOLDT, A., Benthies, H.F.,
Haberland, G., Digitoxin metabolism by rat liver
mikrosomes
Biochem.Pharmacol. 24, 1639 (1975)
55. SCHMOLDT, A., Rohloff, C., Dehydro-digitoxosides of digitoxige-
nin: Formation and importance for the
digitoxin metabolism in the rat.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.
305, 167 (1978)
56. SCHMOLDT, A., Increased digitoxin cleavage by liver
mikrosomes
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.
305, 261 (1978)
57. SCHMOLDT, A., Buhr, S.L.,
Albersmeyer, K., Effects of inducers and inhibitors of
rat liver mono-oxygenases on digitoxin
metabolism
Biochem.Pharmacol. 29, 405 (1980)
58. SCHNEIDER, J.J., Lewbart, M.L., Enzymic synthesis of steroid sulfates
J.Biol.Chem. 222, 787 (1956)

59. SPRATT, J.L., Digitoxigenin metabolism by rat liver mikrosomes and its induction by phenobarbital
Biochem.Pharmacol. 22, 1669 (1973)
60. STOHS, S.J., Reinke, L.A., El-Orlemy, M.M., Metabolism in vitro of digitoxigenin by rat liver homogenates
Biochem.Pharmacol. 20, 437 (1971)
61. STORSTEIN, L., Amlie, J., Pharmacocinetics and metabolism of digitoxin in patients with chronic active hepatitis. In: Digitoxin Herausgeber: Greef, K., Rietbrock, N., F.K. Schattauer-Verlag Stuttgart, New York, Seite 191 - 198 (1979)
62. TALCOTT, R.E., Stohs, S.J., Interactions of digitoxigenin and digoxigenin with cytochrome P-450
Res.comm.chem.Pathol.Pharmacol. 4, 723 (1972)
63. VOLP, R.F., Lage, G.L., The fate of a major biliary metabolite of digitoxin in the rat intestine
Drug Metabol.Disp. 6, 418 (1978)
64. VÖHRINGER, H.F., Pharmakokinetik von Digitoxin, Digitoxigenin-monodigitoxosid und Digitoxigenin-didesoxyrhamnosid beim Menschen unter besonderer Berücksichtigung niereninsuffizienter Patienten. Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin (1978)

65. VÖHRINGER, H.F., Rietbrock, N., Renale und extrarenale Elimination von Digitoxin. In: Digitoxin als Alternative in der Therapie der Herzinsuffizienz.
Herausgeber: Greef, Rietbrock
Schattauer-Verlag, Seite 114 ff (1979)

Abschließend möchte ich mich bei allen bedanken,
die die vorliegende Arbeit ermöglicht und mich
bei ihrer Durchführung unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med.
N. Rietbrock für die Überlassung des Themas und
die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie
Herrn Dr. B.G. Woodcock für die wissenschaft-
liche Betreuung der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 20. November 1956 wurde ich als Sohn des Architekten Roland Wölfle und seiner Ehefrau Lisa in Frankfurt am Main geboren.

Meine Jugend verbrachte ich vom zweiten Lebensjahr an in der Taunusgemeinde Niederjosbach, wo ich auch vom 1. April 1963 bis zum 26. November 1966 die Grundschule besuchte.

Am 26. November 1966 wurde ich in das Leibniz-Gymnasium nach Frankfurt am Main - Höchst umgeschult; dort legte ich am 23. Mai 1975 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1975/76 immatrikulierte ich mich an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main für das Fach Mathematik, mußte mich jedoch wegen Krankheit für dieses Semester beurlauben lassen.

Im Sommersemester 1976 begann ich an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg das Studium der Humanmedizin und bestand dort nach vier Semestern am 22. März 1978 die ärztliche Vorprüfung. Zum Sommersemester 1978 wechselte ich an die Johann Wolfgang Goethe-Universität nach Frankfurt am Main, wo ich am 22. März 1979 den ersten Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung und am 20. März 1981 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ablegte.

Voraussichtlich werde ich im April 1982 den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ablegen und im Anschluß daran die ärztliche Approbation erhalten.

Olaf Wölfle

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

"SUBLINGUALE RESORPTION VON DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID"

im Zentrum der Pharmakologie unter der Leitung von Herrn Professor Dr.med. N. Rietbrock mit Unterstützung durch Herrn Dr. B.G. Woodcock ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 9.9.1981

Olaf Wölfle

A b s t r a c t

WÖLFLE, OLAF:

SUBLINGUALE RESORPTION VON DIGITOXIGENIN-MONO-DIGITOXOSID

Sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid weisen die Blut-Konzentrationsverläufe zwei Aktivitätsmaxima auf. Einem ersten Maximum nach $1,5 \pm 0,7$ Stunden bei oraler und nach $1,9 \pm 1,3$ Stunden bei subling. Applikation folgt ein schnelles Absinken der Konzentration, um dann ein zweites, bei einigen Probanden das erste an Höhe übertreffende Konzentrationsmaximum nach $8,8 \pm 3,0$ Stunden bei oraler und $12,0 \pm 6,9$ Stunden bei subling. Applikation zu erreichen. Der Konzentrationsabfall nach dem zweiten Maximum erfolgt mit einer Halbwertszeit zwischen 36,2 Stunden und 198,1 Stunden bei oraler und zwischen 22,9 Stunden und 115,7 Stunden bei subling. Applikation. Für den Zeitpunkt und die Höhe des ersten bzw. zweiten Konzentrationsmaximums, die Eliminationshalbwertszeit und für die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve in der Zeit von 0 - 168 Stunden post appl. konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen oraler und subling. Applikation gefunden werden. Alle gemessenen pharmakokinetischen Parameter wiesen zwischen den fünf Probanden erhebliche Unterschiede auf. Nach subling. Applikation war die Glykosidausscheidung im Urin in den ersten vierundzwanzig Stunden signifikant höher als nach oraler Applikation. Nach XAD-Extraktion des Serums zum Zeitpunkt der beiden Konzentrationsmaxima ist unveränderte Substanz bereits 1/2 - 2 Stunden nach Applikation nur noch in Spuren nachzuweisen, so daß fast die gesamte im Serum gemessene Glykosidkonzentration auf polare Metaboliten zurückzuführen sein dürfte. Nach Applikation von Digitoxigenin-mono-digitoxosid kommt es demnach sowohl nach oraler als auch nach subling. Applikation zu einem schnellen und fast vollständigen Abbau des Glykosids. Nach XAD-Extraktion des Urins wurden nach oraler Applikation 23,5 % und nach subling. Applikation 23,1 % der innerhalb 24 Stunden ausgeschiedenen Glykosidmenge als nicht-polar bestimmt, so daß 76,5 % (oral) bzw. 76,9 % (subling.) der radioimmunologisch bestimmten Glykosidkonzentration im Urin auf polare Metaboliten entfallen dürfte. Während zwei Versuchspersonen eine relative Bioverfügbarkeit der Buccaltabletten gegenüber den Oralttabletten von ca. 50 % zeigen, beträgt die rel. Bioverfügbarkeit bei den übrigen drei Probanden ca. 130 %.

